

**19<sup>ème</sup> Congrès de la Société Française de Biophysique**  
**16-19 octobre 2004, Anglet**

**RÉSUMÉS DES COMMUNICATIONS**

# CONFÉRENCE D'HONNEUR

# DE L'UTILISATION DU PARAMÈTRE PRESSION EN BIOPHYSIQUE

C. Balny

EA 3763, INSERM U 432, Université Montpellier 2 Place Eugène Bataillon 34095 Montpellier Cedex 05

L'utilisation de la pression en biologie est une histoire qui a débuté il y a plus d'un siècle et où les acteurs sont venus de diverses disciplines. Pour les études biochimiques, ce paramètre a été longtemps négligé car, outre les problèmes techniques, les bases conceptuelles manquaient. Trois raisons justifient son utilisation pour les sciences du vivant : 1) la vie abyssale, 2) sa prise en compte comme paramètre physico-chimique, 3) les applications biotechnologiques et agro-alimentaires.

A la fin du 19<sup>ème</sup> siècle, les chercheurs français ont été parmi les premiers à envisager les avantages qu'il y aurait à utiliser les hautes pressions en biologie. Il fallut cependant attendre 1914 pour que des études biochimiques soient entreprises systématiquement sous l'impulsion de P. Bridgman (Prix Nobel de Physique) qui fut le premier à montrer que l'albumine " coagulait " sous pression. Simultanément, B.H. Hite, découvre que la pression peut provoquer une destruction partielle des micro-organismes et donc augmenter la durée de conservation des aliments. Mais ce n'est qu'en 1950, grâce à Eyring et Laidler, que l'on doit les premières formalisations des effets de la pression sur les réactions enzymatiques. Depuis une vingtaine d'années, aux USA, au Japon et en Europe, il y a un regain d'intérêt pour ces travaux, et ce, dans des cadres pluridisciplinaires.

Différentes techniques biophysiques sont maintenant adaptées aux hautes pressions pour aborder les problèmes structuraux et fonctionnels de certains systèmes biologiques. Des exemples concernant la recherche fondamentale et les applications les plus récentes dans les domaines de la pharmacie (stérilisation) et de la médecine (vaccins, maladies à prions) seront donnés.

---

## NOTES



## **LA MEMBRANE *IN VIVO***

# DÉSTABILISATIONS ÉLECTRIQUES DES MEMBRANES BIOLOGIQUES : ASPECTS THÉORIQUES, DÉVELOPPEMENTS EXPÉRIMENTAUX ET ( BIENTÔT) PERSPECTIVES PRATIQUES

J. Teissie

IPBS CNRS (UMR 5089)

Un champ électrique induit plusieurs classes d'effets sur les cellules. Outre le classique effet Joule, sa conséquence principale est une modification transitoire de la différence de potentiel membranaire en raison du caractère de discontinuité électrique que représente la membrane cellulaire. L'expression théorique de cette modification  $\Delta V$  est du type:

$\Delta V = F G R E \cos \theta$  où F est lié à la forme de la cellule, G à sa physiologie, R désigne son rayon et  $\theta$  l'angle polaire du point considéré. En d'autres termes, l'effet, sensible à la taille de la cellule, sera le plus grand pour  $\theta$  voisin de 0 ou  $\pi$  donc face aux électrodes.

Il est possible de modifier la structure membranaire en augmentant sa différence de potentiel. Au-delà d'une valeur critique de l'ordre de 200 mV, la membrane devient à la fois perméable et fusogène. Cet état est transitoire. L'électropulsation de cellules permet d'atteindre cette valeur critique et par là de déclencher la perméabilisation locale de l'édifice membranaire. Il suffit que l'intensité du champ soit supérieure à un seuil  $E_p$  qui va induire cette différence de potentiel critique au niveau des pôles. Le caractère transitoire de cette modification permet éventuellement de conserver la viabilité des cellules traitées. Cependant cet état perméabilisé furtif va permettre l'introduction dans le cytoplasme de molécules exogènes (électrochargement). L'état de perméabilisation à durée de vie longue est sous le contrôle de nombreux paramètres manipulables par l'expérimentateur. Son origine demeure mal caractérisée.

L'intérêt de l'électropulsation en usage clinique va se manifester pour les composés polaires (bleomycine, cis platine) où des gains d'efficacité de plus de 3 ordres de grandeur sont obtenus pour la destruction de cellules cancéreuses ("Electrochimiothérapie").

Ce caractère de perméabilisation à longue durée de vie n'est associé qu'aux petites molécules. Le mécanisme d'entrée de plasmides semble différent car elle n'a lieu que pendant l'application du champ. Elle met en jeu une accumulation électrophorétique de l'ADN sur la surface électroperméabilisée conduisant à son agrégation (vesiculation ?). Là encore l'interprétation demeure sujet à débats. Un processus ultérieur conduit alors à l'expression de la protéine codée. Le développement de cette approche sur l'animal conduit à d'intéressantes perspectives en Thérapie génique et en vaccination par l'ADN nu.

L'électropulsation cellulaire ne se limite pas à rendre la membrane de la cellule perméable. Des cellules en contact vont fusionner sous l'action de l'impulsion électrique (Electrofusion). Les conditions électriques efficaces sont proches de celles qui perméabilisent la membrane. Cependant la fusion n'a pas lieu sous l'effet direct du champ. En effet des cellules isolées d'abord électroperméabilisées puis amenées en contact vont également former spontanément des hybrides suite à leur fusion. L'état électroperméabilisé possède donc une organisation où les forces de répulsion intermembranaire à courte distance (forces d'hydratation) sont affaiblies. La conséquence pour le secteur aval est bien sur la réalisation d'hybrides ou le développement de nouveaux vecteurs pour l'immunothérapie.

---

## NOTES

# IMAGERIE OPTIQUE DE LA TRANSFECTION ET DE LA PERMEABILISATION DU MUSCLE TIBIAL CRANIAL CHEZ LA SOURIS APRES ELECTROTRANSFERT.

M. F. Bureau et D. Scherman

Unité de Pharmacologie Chimique et Génétique, INSERM u 640, CNRS FRE 2463, Faculté de pharmacie, 4 av de l'Observatoire 75006, Paris.

L'objet de ce travail a été d'évaluer la technique d'imagerie optique pour suivre et quantifier la transfection du muscle tibial cranial de la patte de souris par électrotransfert d'un plasmide codant la luciférase. L'injection locale d'un traceur fluorescent (dextran-rhodamine, PM 10000) permet aussi de visualiser la perméabilisation des fibres musculaires dans ces conditions. Après injection intramusculaire du plasmide codant la luciférase et/ou de dextran-rhodamine 8 impulsions électriques de 200 V/cm, d'une durée de 20 msec à 2 Hz sont appliquées à la patte. A différents temps après électrotransfert l'injection locale de luciférine (125 µg/50 µl) permet d'induire une luminescence évaluée à l'aide d'une caméra CCD refroidie. La luminescence est détectable dès 7 h après électrotransfert de 0,3, 3 ou 30 µg de plasmide et a été suivit sur 61 jours. Ces mesures *in vivo* de l'activité luciférase sont corrélées aux mesures *in vitro* sur broyat de muscle. Un jour après injection de dextran-rhodamine l'augmentation de fluorescence des pattes électrotransférées est supposée due à l'entrée du dextran dans les fibres musculaires du fait de leur perméabilisation par le champ électrique, le dextran extracellulaire étant plus rapidement éliminé. En accord avec cette hypothèse l'application d'impulsions électriques dans des conditions non perméabilisantes n'induit pas d'augmentation de la fluorescence. L'imagerie optique permet donc de suivre et d'évaluer la transfection du muscle tibial cranial par électrotransfert. L'électroperméabilisation peut être visualisée par la captation cellulaire de dextran fluorescent.

---

## NOTES

## IMPEDANCEMETRY AND AFM CHARACTERIZATION OF RHODOPSIN OR OLFACTORY RECEPTORS SPECIFICALLY IMMOBILIZED ON A BIOSTRUCTURED SURFACE.

F. Bessueille<sup>1</sup>, A. Errachid<sup>1</sup>, G. Gomila<sup>1</sup>, T. Gorojankina<sup>2</sup>, S. Helali<sup>3</sup>, Y. Hou<sup>3</sup>, N. Jaffrezic-Renault<sup>3</sup>, J. Minic<sup>2</sup>, E. Pajot-Augy<sup>2</sup>, M.-A. Persuy<sup>2</sup>, O. Ruiz<sup>1</sup>, R. Salesses<sup>2</sup> et J. Samitier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of NanoBioEngineering - Barcelona Science Park Edifici Modular 08028 Barcelona Spain

<sup>2</sup>INRA - Neurobiologie de l'Olfaction et de la Prise Alimentaire - Récepteurs et Communication Chimique Domaine de Vilvert 78352 Jouy-en-Josas Cedex

<sup>3</sup>IfoS, UMR CNRS 5621 Ecole Centrale de Lyon BP 163, 63131 Ecully Cedex France

The objective of the Single Protein NanoBioSensor grid array (SPOT-NOSED) european project is to develop a bioelectronic sensor based on the electrical properties of single olfactory receptors anchored in a monolayer between nanoelectrodes. The olfactory receptors conformational change upon binding of their odorant ligand will be detected by impedanceometry. The present contribution deals with the anchoring / positioning of receptors on gold surfaces.

Rhodopsin, a model of known 3D structure for olfactory receptors, was prepared from calf eyes, and used as enriched membrane fraction. Recombinant rat I7 olfactory receptor was expressed in an engineered yeast strain, and its functionality to odorant ligand binding checked using a reporter system. Yeast membrane fraction, specifically containing the expressed receptor, was obtained by lysis of yeast cells. Rho-1D4 monoclonal antibody against rhodopsin C-terminus, and polyclonal anti-I7 antibody against I7 N-terminus were biotinylated to enable grafting of the receptors onto functionalized surfaces.

Immobilization of the receptors on the gold substrate was performed in several steps involving mixed SAMs, neutravidin, biotinylated antibody, and receptor in its membrane fraction. Impedanceometry detection of the structure was performed after each step in an electrochemical cell with a three-electrode system to follow modifications. At increasing receptor concentrations, significant changes in impedance were detected, showing increasing immobilization and tending to a saturation. The structures obtained are stable, with a controlled density of specific anchoring sites, and are currently undergoing AFM observations.

---

## NOTES



# IDENTIFICATION ET TYPAGE PAR (MICRO)-SPECTROSCOPIE IR-TF DE LEVURES DU GENRE CANDIDA ISOLÉES EN MILIEU CLINIQUE.

M. Essendoubi<sup>1</sup>, G. Sockalingum<sup>1</sup>, M. Manfait<sup>1</sup>, J.-M. Pinon<sup>2</sup> et D. Toubas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Unité MÉDIAN, CNRS UMR 6142, UFR de Pharmacie, IFR53, Université de Reims Champagne-Ardenne.

<sup>2</sup>Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, EA 3800, Hôpital Maison Blanche, CHU de Reims.

Face à la grande diversité des levures du genre *Candida* isolées en milieu clinique et à l'augmentation continue des infections fongiques chez l'Homme, il apparaît nécessaire d'identifier et caractériser ces levures précocement, afin d'établir un diagnostic rapide et de prescrire une thérapie antifongique bien adaptée.

Dans cette étude la (micro)-spectroscopie IR-TF a été appliquée à l'identification des espèces de *Candida* les plus fréquentes en pathologie humaine, dans un premier temps à partir des cultures pures de 24 heures, et dans un deuxième temps à partir de micro-colonies âgées de 12 à 18 heures pour une identification précoce. Cette technique a été également utilisée pour le typage de différentes souches de *C. albicans* et *C. glabrata*. Les résultats obtenus démontrent l'efficacité de la spectroscopie IR-TF pour l'identification des espèces, et pour laquelle un taux de classification de 100% a été obtenu, aussi bien pour les mesures réalisées à partir de cultures pures qu'à partir de micro-colonies. Grâce au grand pouvoir discriminant de cette technique phénotypique, nous avons obtenu un pourcentage de 100% dans le typage de *C. albicans* et *C. glabrata*.

En conclusion, la (micro)-spectroscopie IR-TF est une technique très fiable qui en une simple mesure permet d'identifier les espèces et les sous-espèces, en se basant sur la classification des spectres IR-TF à l'aide d'outils d'analyse statistique multivariée. Cette technique pourra également être appliquée à l'étude d'autres caractères, notamment à l'évaluation du pouvoir pathogène et de la résistance aux agents antifongiques.

---

## NOTES

## **MODÈLE DE MEMBRANE**

# COHÉSION MEMBRANAIRE : ÉTUDE EN VÉSICULES GÉANTES UNILAMELLAIRES

S. Cribier<sup>1</sup>, N. Rodriguez<sup>1</sup> et F. Pincet<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Physico-Chimie Moléculaire des Membranes Biologiques - CNRS UMR 7099 Institut de Biologie Physico-Chimique 13 rue Pierre et Marie Cur

<sup>2</sup>Laboratoire de Physique Statistique de l'ENS - CNRS UMR 8550 Ecole Normale Supérieure 24 rue Lhomond - 75231 Paris cedex 05

Les vésicules géantes obtenues par électroformation sont maintenant largement utilisées comme système modèle d'étude de phénomène inter ou intra membranaire (fusion, déformation, rupture, ...etc). Nous étudions ces phénomènes par microscopie photonique et de fluorescence. La micromanipulation de ces objets nous permet de contrôler leur tension de surface et leur environnement.

Une meilleure compréhension des paramètres qui assurent la stabilité des membranes peut être obtenue au moyen d'expériences de fusion membranaire. Nous avons essayé de mettre en évidence le rôle de différents paramètres sur la fusion : la tension (contrôlée par micro aspiration), la courbure (en utilisant des vésicules de taille différente), les interactions électrostatiques fortes (lipides chargés et sels), les forces d'hydratation et la composition lipidique.

La stabilité membranaire peut également être abordée par le biais de l'insertion de lysophospholipides (phospholipide relativement soluble, s'insérant spontanément dans la bicouche lipidique). Dans certaines conditions, une déstabilisation spectaculaire de la membrane a lieu : des pores de taille micrométrique (comparable au rayon de la vésicule) sont observés. Ces pores ont des durées de vie de l'ordre de plusieurs secondes et donnent lieu à un flux sortant important : des vésicules internes, de diamètre quelques microns sont expulsées.

---

## NOTES

# RMN DE STÉROLS EN MEMBRANE : DE L'ATTRIBUTION EXPÉRIMENTALE À L'ANALYSE DÉTAILLÉE DES DÉPLACEMENTS CHIMIQUES PAR MÉTHODE DE CHIMIE QUANTIQUE

O. Soubias<sup>1</sup>, V. Réat<sup>1</sup>, F. Jolibois<sup>2</sup> et A. Milon<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale, CNRS et Univ. P. Sabatier, 205 rte de Narbonne, Toulouse, France

<sup>2</sup>Laboratoire de Physique Quantique, IRSAMC, Université Paul Sabatier, Toulouse

L'étude des interactions au sein d'une membrane biologique est au centre de la compréhension de son organisation supramoléculaire et de sa dynamique fonctionnelle. La mise en évidence récentes des domaines lipidiques, riches en cholestérol et en lipides saturés qui joueraient un rôle important dans la signalisation intracellulaire a renouvelé l'intérêt d'apporter de nouvelles informations sur les interactions et la dynamique de système modèle lipides-stérols.

Nous présentons ici l'attribution complète <sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C du cholestérol en liposomes de DMPC déterminée à partir de différentes expériences réalisées en rotation à l'angle magique entre 8 et 15kHz : HETCOR avec transfert d'aimantation de type INEPT ou de type Polarisation Croisée <sup>(1)</sup>, INADEQUATE <sup>(2)</sup>, ge-HSQC <sup>(3)</sup>.

La comparaison des attributions carbone du cholestérol, en phase liquide et en membrane, a montré des variations de déplacements chimiques concernant essentiellement les carbones du premier cycle et ceux impliqués dans les doubles liaisons. L'analyse de ces variations en terme de présence de liaisons hydrogènes et de rotamères impliquant le groupement hydroxyle des stérols, a été faite en confrontant ces résultats expérimentaux aux résultats théoriques obtenus par calcul de chimie quantique <sup>(4-5)</sup>. Ils apportent de nouvelles informations pour la compréhension des interactions stérol - lipides dans une membrane .

1. Soubias O. *et al*, 2002, J. Magn. Reson., 158, 143-148
2. Lesage A. *et al*, 1999, J. Am. Chem. Soc., 121, 10987-10993
3. Soubias O. *et al*, 2003, J. Magn. Reson., 165, 303-308.
4. Jolibois F. *et al*, Chemistry - A European Journal, acceptée
5. Soubias O. *et al*, Chemistry - A European Journal, acceptée

---

## NOTES

# BICELLES DONT LA NORMALE S'ORIENTE PARALLÈLEMENT AU CHAMP MAGNÉTIQUE: SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION PAR RMN DES SOLIDES

C. Loudet<sup>1</sup>, S. Gineste<sup>2</sup>, M.-F. Achard<sup>2</sup> et E. J. Dufourc<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut Européen de Chimie et Biologie, UMR MoBiOS 5144, 2 rue Robert Escarpit, 33607 Pessac

<sup>2</sup>Centre de Recherche Paul Pascal, Av. Albert Schweitzer, 33600 Pessac

Nous développons un nouveau modèle de biomembrane de type bicelle, dont les caractéristiques peuvent élargir les applications actuelles, notamment dans l'étude structurale de biomolécules, comme les protéines membranaires. Cette étude est complémentaire à celle des bicelles dites « classiques » constituées de DiMyristoylPhosphatidylCholine (DMPC) et de DiCaproylPhosphatidylCholine (DCPC), dont la normale au plan s'oriente perpendiculairement au champ magnétique  $B_0$ .

Ces nouveaux objets, supposés de forme bicouche discoïdale, sont constitués d'un mélange de lipides à chaînes longues, le 1-Tétradécanoyl-2-(4-(4-Biphenyl)Butanoyl)-sn-glycero-3-PhosphatidylCholine (TBBPC), qui se placent préférentiellement dans la partie plane du disque, et de lipides à chaînes courtes, le DCPC, qui se répartissent principalement dans le tore du disque. Le TBBPC, formé par une réaction d'estérification entre l'hydroxy lyso lipide PhosphatidylCholine et l'acide 4-(4-biphényle)butanoïque, possède une anisotropie de susceptibilité magnétique positive, due à la présence des deux cycles biphényles. La normale au plan des bicelles TBBPC/DCPC s'oriente alors de manière spontanée parallèlement au champ magnétique  $B_0$ .

Il s'agit de déterminer le diagramme de phase de ces nouvelles bicelles en fonction de la composition en lipides, de la température et de l'hydratation par la technique de RMN des solides en <sup>31</sup>P et en <sup>2</sup>H, et de le comparer avec celui du système DMPC/DCPC. Ces bicelles TBBPC/DCPC (5.5:1), à 90% d'hydratation, ont déjà montré un domaine d'existence plus grand en fonction de la température (10°C-54°C). Elles sont donc stables à température ambiante, ce qui facilite leur utilisation.

---

## NOTES

## FISSION D'UN TUBE DE MEMBRANE MULTIPHASE

J.-M. Allain<sup>1</sup>, C. Storm<sup>2</sup>, J.-F. Joanny<sup>2</sup> et M. Ben Amar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de physique statistique, Ecole Normale Supérieure, 24 rue Lhomond, 75231 Paris Cedex 05

<sup>2</sup>Physico-chimie "Curie", Institut Curie section recherche, 26 rue d'Ulm, 75248 Paris Cedex 05

Fission d'un tube de membrane multiphase

Un mécanisme classique pour le transport intracellulaire est l'utilisation de déformations contrôlées de la membrane pour créer des excroissances sphériques ou tubulaires. La description de ces phénomènes est bien comprise pour des membranes homogènes. Par contre, les effets des inhomogénéités de la membrane sont un champ d'étude actif. En particulier, les domaines membranaires enrichis en lipides spécifiques attirent beaucoup d'attention actuellement. Nous nous sommes intéressés aux effets de tels domaines sur la forme et le devenir de tubes de membrane. Des expériences récentes ont montré qu'une séparation de phase forcée, conduisant à l'apparition de tubes avec plusieurs domaines, peut déclencher la fission du tube. Nous montrons comment ceci peut être compris uniquement par la différence des propriétés élastiques entre les deux domaines. De plus, le modèle proposé prédit des temps de fission en accord avec les résultats expérimentaux.

---

NOTES

**MOTILITÉ**

# CONTRÔLE DE LA POLYMÉRISATION DE L'ACTINE DANS LA MOTILITÉ CELLULAIRE

M.-F. Carlier

Laboratoire d'Enzymologie et Biochimie Structurales - CNRS - 91198 Gif-sur-Yvette

Les cellules vivantes changent de forme et se déplacent en réponse aux signaux du monde extérieur. Ces processus motiles, qui jouent un rôle crucial dans la morphogenèse, la migration des cellules embryonnaires ou métastatiques, la réparation des tissus, la plasticité synaptique et la réponse immunitaire, sont engendrés par la polymérisation polarisée et spatialement contrôlée des filaments d'actine. La directionnalité de ces processus est liée à leur caractère dissipatif : c'est en effet le treadmilling (turnover) des filaments, régulé par des protéines spécifiques, qui assure la production de force et le mouvement. Deux machineries protéiques conservées couplent la dynamique d'assemblage du cytosquelette actine aux voies de signalisation et sont responsables de la génération de filaments en des sites spécifiques de la membrane plasmique : 1) le système WASP-Arp2/3 engendre un réseau de filaments branchés qui promeut l'extension des lamellipodes ou la propulsion d'endosomes et des pathogènes *Listeria* et *Shigella* ; 2) les formines initient la polymérisation de filaments d'actine non branchés, dans d'autres processus comme l'assemblage des filaments de l'anneau contractile dans la cytokinèse, la formation de jonctions adhérentes entre cellules, l'adhésion des cellules au substrat. Nous avons combiné une approche biochimique et biomimétique de ces processus motiles auto-organisés afin de reconstituer *in vitro* le mouvement autonome stationnaire d'une particule fonctionnalisée par polymérisation dirigée d'actine dans un milieu chimiquement contrôlé. Nous pouvons ainsi mesurer la force produite par polymérisation et obtenir des informations sur le mécanisme moléculaire du mouvement par des mesures sur molécules uniques. Nous montrons ainsi que la formine est un moteur processif de l'assemblage des filaments.

---

## NOTES



# ETUDE DU MOUVEMENT D'UNE KINÉSINE UNIQUE PAR MICROSCOPIE INTERFÉRENTIELLE EN RÉFLEXION TOTALE

**A. Dornier, L. Busoni, K. Zeldovitch, G. Cappello et J. Prost**

Physico Chimie Curie, UMR CNRS/IC 168, 26 rue d'Ulm, 75248 Paris Cedex 05, France.

Les kinésines sont des moteurs moléculaires impliqués dans de nombreux processus biologiques, notamment le transport intracellulaire et la division cellulaire. Elles sont capables d'hydrolyser des molécules d'ATP et de convertir cette énergie chimique en travail mécanique afin de transporter des cargaisons le long des microtubules. Une kinésine avance par pas discret de 8 nanomètres, correspondant à la longueur d'un dimère de tubuline, à chaque molécule d'ATP hydrolysée.

Pour accéder au détail du pas de 8 nm (présence de sous-étapes, temps caractéristiques du moteur), nous avons développé une technique optique originale : la microscopie interférentielle en réflexion totale avec détection synchrone. Le principe de cette microscopie est de marquer le moteur par une petite bille (100 nm) et d'observer son déplacement à travers un réseau de franges d'interférence qui se déplace à une vitesse imposée par un signal de référence. Comme la bille diffuse la lumière proportionnellement à l'intensité locale, la mesure par un photodétecteur rapide des variations temporelles de la lumière diffusée permet de remonter à sa position précise dans les franges.

Dans cet exposé, nous présenterons tout d'abord le principe de fonctionnement de ce microscope, puis l'étude réalisée sur le mouvement de la kinésine de *Neurospora* en l'absence de force extérieure. Nous exposerons d'une part l'analyse des fluctuations thermiques de la bille qui donne des informations sur les propriétés dynamiques de la liaison bille-kinésine, et d'autre part l'analyse des pas qui montre que le pas de 8 nm s'établit en moins de 20 microsecondes et qu'à cette échelle de temps, aucune structure interne n'a été observée.

---

## NOTES

# ANALYSIS OF THE STRUCTURE AND DYNAMICS OF THE LAMELLIPODIA USING THE COMPARISON OF EXPERIMENTAL AND SIMULATED IMAGES

S. Schaub, J.-J. Meister et A. Verkhovsky

Laboratoire de Biophysique Cellulaire - Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne

Protrusion of the lamellipodia is based on the actin network assembly, which is characterized by dendritic branching and capping of filaments. Dynamics of actin assembly were investigated mostly in the reconstituted model systems, but little is known about the rates of branching and capping and the length and orientation of actin filaments in the lamellipodia of migrating cells. The fluorescence images of the lamellipodia of fish epidermal keratocytes present a previously unexplained diagonal network pattern of the density variation of filamentous actin (F-actin). To account for this pattern, we performed simulations of actin network assembly based on the hypothesis of stochastic branching and capping of filaments and obtained computed "fluorescence" images of simulated network using MATLAB software. To compare simulated and experimental images, we developed a novel image analysis tool, which determines the correlation length of linear features of the image depending on the orientation of these features. Varying the actin filament density, orientation, branching and capping rates in the simulations we obtained images that were similar to experimental images both in the overall contrast and pattern, and in the angular distribution of correlation length. The analysis detected changes in actin correlation length upon treatment of keratocytes with a low concentration of actin capping agent, cytochalasin D. Thus, actin filament density, orientation and dynamics in the lamellipodia could be estimated with our computational image analysis approach.

---

## NOTES

## DISCO : UNE LIGNE DE LUMIÈRE POUR LA BIOPHYSIQUE SUR LE SYNCHROTRON SOLEIL

J. C. Maurizot<sup>1</sup>, O. Laprèvote<sup>2</sup>, S. Miron<sup>1</sup> et M. Réfrégiers<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centre de Biophysique Moléculaire, Orléans

<sup>2</sup>Institut de Chimie des Substances Naturelles, Gif-sur-Yvette

Nous décrivons une nouvelle ligne de lumière orientée vers la biophysique en construction sur le synchrotron SOLEIL. La forte brillance du rayonnement synchrotron, associée à son accordabilité sur une grande partie du spectre électromagnétique en font une source de choix pour plusieurs techniques. Cette ligne sera constituée de trois stations expérimentales :

Une station de **dichroïsme circulaire** dans le VUV et le visible

Une station de **spectrométrie de masse après photoionisation**

Une station d'**imagerie multiparamétrique**

La station de dichroïsme circulaire profitera de l'extension de la gamme spectrale vers le VUV ainsi que de la polarisation naturelle du rayonnement synchrotron. Il sera ainsi possible de réaliser des spectres de dichroïsme circulaire des protéines sur une gamme étendue d'énergie, conduisant à une analyse structurale plus fiable et plus précise. De nouveaux chromophores d'intérêts biologiques (par exemple ceux des sucres) pourront être utilisés.

La station de spectrométrie de masse par électrospray à pression atmosphérique bénéficiera d'un rayonnement avec des énergies encore plus élevées (jusqu'à 60 nm). Il deviendra possible de photoioniser des molécules de grande taille et en particulier des protéines sans contrainte de solvant pour ensuite les analyser par spectrométrie de masse.

La station d'imagerie multiparamétrique construite autour d'un microscope confocal utilisera la grande accordabilité du rayonnement synchrotron (200-700 nm) pour exciter les échantillons à plusieurs longueurs d'ondes en même temps. La composante temporelle du faisceau permettra de réaliser de façon naturelle des images de durée de vie de fluorescence par la méthode différentielle de phase.

---

### NOTES

**DYNAMIQUE *IN VIVO***

# SINGLE MOLECULE DETECTION REVEALS UNEXPECTED MOBILITY OF RECEPTORS IN SYNAPSES

C. Bats<sup>2</sup>, L. Cognet<sup>1</sup>, L. Groc<sup>2</sup>, M. Heine<sup>2</sup>, C. Tardin<sup>1</sup>, B. Luonis<sup>1</sup> et D. Choquet<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centre de Physique Moléculaire Optique et Hertzienne - CNRS UMR 5798 et Université Bordeaux 1, 351 Cours de la Libération, 33405 Talence, France

<sup>2</sup>Laboratoire de Physiologie Cellulaire de la Synapse - CNRS UMR 5091 et Université Bordeaux 2, Institut François Magendie, 1 rue Camille Saint-Saëns

AMPA Receptor trafficking in and out of synapses is one of the core mechanisms for rapid changes in the number of functional receptors during synaptic plasticity. Recent data have shown that rapid gain and loss of receptors from synaptic sites are accounted for by endo/exocytotic processes as well as by their lateral diffusion in the plane of the membrane. These events are interdependent and regulated by neuronal activity and interactions with scaffolding proteins. We will focus here on the physical as well as physiological laws that govern receptor diffusion and stabilization and how this might reshape our thinking about the specific regulation of receptor accumulation at synapses.

We directly imaged AMPA and NMDA type glutamate receptor movements inside, at the periphery and outside synapses of live cultured hippocampal neurons using single-molecule fluorescence microscopy and single quantum dot tracking. Inside individual synapses, we found mobile receptors next to immobile ones. Mobile synaptic receptors display restricted diffusion in contrast to the free diffusion found outside and at the periphery of synapses. We recorded exchanges of receptors through lateral diffusion between these different membrane compartments. In conditions of glutamate induced synaptic depression, receptor mobility increased inside synapses and a higher fraction of mobile receptors was found in a juxtasyntaptic annulus. Conversely, during the processes which lead to increased AMPARs numbers at synapses, receptors are initially mobile in synapses and are then stabilized. Altogether, our data show that rapid exchange of receptors between a synaptic and extra-synaptic localization occurs through regulation of receptor diffusion inside synapses.

---

## NOTES

# DYNAMIQUE DE L'ÉJECTION DE L'ADN DE VIRUS BACTÉRIEN : ÉTUDE PAR MICROSCOPIE DE FLUORESCENCE SUR PARTICULE VIRALE UNIQUE

S. Mangenot<sup>1</sup>, M. Hochrein<sup>2</sup>, J. Rädler<sup>2</sup> et L. Letellier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Université Paris Sud, LPS (UMR CNRS 8502) et IBBMC (UMR CNRS 8619), Orsay

<sup>2</sup>Physik Dept, Ludwig Maximilians Universität, München

Phage infection is initiated by the release of the viral genome from the capsid and its polarized injection into the host. Earlier *in vitro* experiments have shown that the dsDNA (121300 bp) from phage T5 can be ejected from the capsid upon interaction of the phage with its *E.coli* membrane receptor FhuA. Here we present a fluorescence microscopy study allowing for the first time to investigate in real time DNA ejection from single phage particles. Phage T5 was adsorbed onto the chamber of a microfluidic cell and the ejected DNA was fluorescently stained with YO-PRO-1. Its length was measured after being stretched in a hydrodynamic flow. Ejection of the DNA took place in less than a few hundred msec at a rate as high as 75000 bp/sec. The unexpected conclusion of this study is that DNA release from phage T5 is not an all or none process but proceeds stepwise. Ejection was transiently arrested at discrete positions on the DNA nearby genetically defined single strand interruptions on the genome. A model describing the multistep ejection process is presented that accommodates the data obtain on single phage particles, the specificity of the T5 genome and of its *in vivo* transport.

---

## NOTES

# COMPARTIMENTATION DYNAMIQUE DES RÉCEPTEURS NK2 DANS LA MEMBRANE PLASMIQUE DE CELLULES HEK : APPROCHE PAR FRAP À RAYON VARIABLE.

L. Cézanne<sup>1</sup>, S. Lecat<sup>2</sup>, B. Lagane<sup>1</sup>, C. Millot<sup>1</sup>, J.-Y. Vollmer<sup>2</sup>, H. Matthes<sup>2</sup>, J.-L. Galzi<sup>2</sup> et A. Lopez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IPBS/CNRS, 205 route de Narbonne, 31062, TOULOUSE cedex.

<sup>2</sup>CNRS UPR9050, Récepteurs et Protéines membranaires, Ecole Supérieure de Biotechnologie de Strasbourg, Boulevard Sébastien Brandt, 67400 Illkirch.

L'organisation dynamique des lipides et des protéines est essentielle dans l'étude fonctionnelle et structurale des membranes biologiques. Dans le cas de la chaîne de transduction du signal via les RCPGs, ceci est d'autant plus important que différents partenaires protéiques sont impliqués successivement dans les étapes de la réponse cellulaire. La technique de Retour de Fluorescence Après Photoaveuglement à rayon variable (FRAPrv) permet d'analyser de façon macroscopique la compartimentation membranaire. Elle a été appliquée à l'étude de la diffusion latérale du récepteur NK2-GFP ainsi que de la phase lipidique sondée par le C<sub>6</sub>-NBD-PC et ce, avant et après activation des récepteurs par un agoniste, la NKA. Les résultats montrent que 30% des récepteurs NK2 sont compartimentés dans des domaines, avant activation par la NKA, de rayon  $420 \pm 80$  nm avec un coefficient de diffusion de  $0.4 \pm 0.1 \cdot 10^{-9}$  cm<sup>2</sup>/s. Après activation, ces récepteurs sont confinés dans des domaines de taille plus petite ( $\approx 170 \pm 50$  nm) où ils sont immobilisés (à l'échelle de temps du FRAP). Dans les deux cas, 70 % des récepteurs NK2 présentent une diffusion à longue distance ( $D \approx 10^{-9}$  cm<sup>2</sup>/s) entre les domaines de confinement. Par des expériences de co-localisation avec différents marqueurs protéiques fluorescents, les domaines membranaires ont été identifiés comme des pré-puits de clathrine non encore invaginés dans la membrane. Nous nous attachons à démontrer que ces zones de confinement seraient des plateformes de signalisation dans lesquelles les différents partenaires protéiques de la transduction du signal seraient redistribués afin d'optimiser leurs interactions séquentielles.

---

## NOTES

# IMAGERIE SPECTRALE ET TEMPORELLE DE L'ÉMISSION DE FLUORESCENCE POUR L'ÉTUDE DE LA RÉSISTANCE DES BIOFILMS AUX AGENTS ANTIMICROBIENS

P. Lacroix<sup>1</sup>, R. Briandet<sup>2</sup>, L. Jacoly<sup>1</sup>, M.-N. Bellon-Fontaine<sup>2</sup> et M.-P. Fontaine-Aupart<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Photophysique Moléculaire, CNRS, UPR 3361, 91405 orsay cedex

<sup>2</sup>Unité de recherche en bioadhésion et hygiène des matériaux, INRA, 91300 massy

La formation de biofilms (communauté microbienne contenue dans une matrice de polymères organiques) par les micro-organismes est un phénomène très largement répandu, la surface de la plupart des matériaux pouvant être colonisée en milieu aqueux par de telles structures biologiques. Il est clairement établi que les cellules microbiennes incluses dans un biofilm sont plus résistantes aux opérations de désinfection que leurs homologues planctoniques mais les mécanismes de résistance impliqués ne sont pas encore clairement élucidés. Différentes hypothèses sont actuellement avancées telles qu'un état physiologique particulier des cellules au sein des biofilms ou encore un rôle de barrière de diffusion de la matrice organique. Nos études portent sur la visualisation et l'analyse à l'échelle moléculaire des interactions qu'établissent les bactéries entre elles ou avec les éléments diffusants lors du développement normal ou pathologique d'un biofilm ou dans les processus de résistance aux agents antimicrobiens. Pour ce faire nous utilisons une instrumentation d'imagerie de la dynamique d'émission de fluorescence intracellulaire par excitation à X photons (système IDEFIX) permettant une analyse de la fluorescence émise par les modes complémentaires d'imagerie d'intensité, de déclin (FLIM) et de corrélation (SCF) de fluorescence ainsi qu'un système de microscopie confocale (LEICA TCS SP2 AOBS) pour les analyses spectrales.

---

## NOTES



# **PROTÉINES : THÉORIE & MODÉLISATION**

# ANALYSE DES SITES DE LIAISON DE DEUX GAZ ANESTHÉSIIQUES, LE XÉNON ET LE PROTOXYDE D'AZOTE, PAR CRISTALLOGRAPHIE ET MODÉLISATION PAR HOMOLOGIE.

N. Colloc'h<sup>1</sup>, J. Sopkova-De Oliveira-Santos<sup>2</sup>, P. Retailleau<sup>3</sup>, T. Prangé<sup>4</sup> et J. Abraini<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CNRS UMR 6185, Université de Caen, centre Cyceron, bd Becquerel, BP 5229, 14074 Caen cedex

<sup>2</sup>UPRES-EA 2126 (CERMN) - UFR Sciences Pharmaceutiques, 5 rue Vaubénard, Caen.

<sup>3</sup>LURE, Université Paris-Sud, Bâtiment 209d, 91405 Orsay cedex.

<sup>4</sup>LCRB, UMR CNRS 8015, Faculté de Pharmacie, 4 avenue de l'Observatoire, 75270 Paris cedex 06.

Les mécanismes de l'anesthésie ne sont pas connus précisément au niveau moléculaire. L'hypothèse la plus probable est que les anesthésiques se lieraient aux récepteurs neuronaux entraînant des modifications fonctionnelles et cinétiques. Le pore du récepteur ionotropique NMDA serait la cible principale des anesthésiques gazeux comme le xénon et le protoxyde d'azote. La structure tridimensionnelle du pore de ce récepteur étant inconnue, nous avons utilisé deux approches complémentaires pour pouvoir proposer un mécanisme d'action des anesthésiques compatible avec les données biochimiques connues. D'une part, l'étude structurale par cristallographie des rayons X de complexes de protéines globulaires solubles avec les gaz. D'autre part, la modélisation moléculaire du pore à partir de la structure connue du canal potassium.

Nous avons montré sur deux protéines modèles, l'urate oxydase et l'annexine V, que le site primaire de liaison du xénon et du protoxyde d'azote étaient identiques, ce qui pouvait expliquer leurs propriétés anesthésiques et neuroprotectrices voisines. Les sites secondaires de liaison diffèrent, ce qui peut être relié à leur différence d'action neurotoxique.

Le modèle tridimensionnel du pore du récepteur NMDA a révélé l'existence d'un site possible de liaison des gaz, qui a les mêmes caractéristiques physico-chimiques que les sites révélés par les études cristallographiques. Ce site ressemble à celui trouvé dans la structure des complexes annexine - gaz. L'analogie avec le changement de conformation de l'annexine V entre les formes avec plus ou moins de calcium a permis de proposer un mécanisme similaire pour le récepteur.

---

## NOTES

# A HIDDEN MARKOV MODEL DERIVED STRUCTURAL ALPHABET FOR PROTEINS

A.-C. Camproux, R. Gautier et P. Tufféry

Equipe de Bioinformatique Génomique et Moléculaire, INSERM E0346, Université Paris 7, case 7113, 2 place Jussieu, 75251 Paris, France

Understanding and predicting protein structures depends on the complexity and the accuracy of the models used to represent them. We have setup a Hidden Markov Model (HMM) that discretizes protein backbone conformation as series of overlapping fragments (states) of 4-residue length. This approach learns simultaneously the geometry of the states and their connections. We obtain, using a statistical criterion, an optimal systematic decomposition of the conformational variability of the protein peptidic chain in 27 states with strong connection logic. This result is stable over different protein sets. Our model fits well the previous knowledge related to protein architecture organisation and seems able to grab some subtle details of protein organisation, such as helix sub-level organisation schemes. Taking into account the dependence between the states results in a description of local protein structure of low complexity. On average the model makes use of only 8.3 states among 27 to describe each position of a protein structure. Although we use short fragments, the learning process on entire protein conformations captures the logic of the assembly on a larger scale. Using such a model, the structure of proteins can be reconstructed with an average accuracy close to 1.1 Angstrom RMSd and for a complexity of only 3.

Finally, we also observe that sequence specificity increases with the number of states of the structural alphabet. Such models can constitute a very relevant approach to the analysis of protein architecture in particular for protein structure prediction.

---

## NOTES

# PRÉDICTION DES RÉSIDUS DU NOYAU DU REPLIEMENT PROTÉIQUE

J. Chomilier<sup>1</sup>, A. Lopes<sup>1</sup> et N. Papandreou<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Equipe Systèmes moléculaire et Biologie Structurale, LMCP, UMR 75890, Universités Paris 6 et Paris 7, Campus Boucicaut, Paris

<sup>2</sup>Department of Genetics, Agricultural University of Athens, Athènes, Grèce

Nous avons étudié la dynamique du repliement des protéines par simulation sur un réseau de type (2, 1, 0), par une technique de Monte-Carlo qui utilise un potentiel de champ moyen. Nous nous sommes particulièrement intéressés aux premières étapes, au cours desquelles est réalisée une agrégation locale qui forme des fragments de la taille approximative d'une ou deux structures secondaires. En calculant le nombre de voisins avec lequel chaque acide aminé est en interaction au cours du repliement, nous pouvons déduire que certains résidus sont très souvent entourés par des voisins proches. Nous les avons appelés des MIR, pour Most Interacting Residues. Sur une banque d'une petite centaine de structures issues de la PDB, il ressort que les MIR, qui sont à plus de 90% des hydrophobes, correspondent très fréquemment à des hydrophobes hautement conservés dans des familles fonctionnelles, les topohydrophobes. Cette méthode est donc efficace pour prédire les positions qui constitueront la partie la plus enfouie du coeur protéique, et la comparaison avec les acides aminés participant au noyau du repliement sera présentée. Il s'agit d'une étape importante dans la méthode qui va de la séquence à la structure, puisque l'on peut ainsi connaître l'ensemble des positions en contact autour desquelles se réalisera l'agrégation en vue de former un globule protéique. La connaissance de ces positions peut alors être incluse comme contrainte dans un algorithme qui propose une structure à basse dimension du coeur protéique en s'attachant à produire la compacité maximale du coeur hydrophobe.

---

## NOTES

# EVOLUTION DE PROTÉINES: SIMULATION ET CONTROLE

T. Simonson, A. Jaramillo, J. Noirel, G. Launay, C. Haberkorn et E. Calvez

Ecole Polytechnique

The current sequencing of hundreds of complete genomes has opened the way towards a molecular view of evolution—limited, however, to contemporary organisms. To extend our view back in time and explore aspects that are not amenable to experiment, the natural route is to develop evolutionary simulations. Following the pioneering work of Eigen on RNA sequences and some very recent work on proteins, we are simulating the 'neutral evolution' of individual proteins as well as groups of interacting proteins. Neutral evolution is subjected to a very simple selective pressure: maintaining the fold of each protein and its specific interactions with other proteins. Evolution then takes the form of a random walk on a graph of sequences. We are currently studying the topology and complexity of these graphs, their role in the evolutionary dynamics, their robustness with respect to changes in the environment. Under very general conditions, we show analytically that the dynamics converges towards a single, stable steady-state.

A closely related problem is to exploit the mechanisms and tricks of natural evolution in order to design new proteins to perform specific tasks. By exploring stochastically the space of sequences compatible with a given fold and a desired function, we perform 'directed evolution' (DE) *in silico*. This technique has been used to develop new ligands, catalysts, and biosensors. One of us (AJ) has parallelized a recent DE program and ported it to a client-server environment, with the client programs running under the control of a screensaver on the PC's of volunteer users. This environment should lead to a great increase in the resources available for protein design at Polytechnique.

---

## NOTES

# ACIDES NUCLÉIQUES

# RECONNAISSANCE MOLÉCULAIRE ENTRE LE SITE DE DÉCODAGE BACTÉRIEN ET LES ANTIBIOTIQUES DE LA FAMILLE DES AMINOGLYCOSIDES.

E. Westhof

Institut de biologie moléculaire et cellulaire, UPR9002 - Université Louis Pasteur - 15, rue René Descartes - 67084 Strasbourg Cedex

Plusieurs structures cristallographiques de complexes entre des oligoribonucléotides comportant la séquence du site accepteur de l'aminocyl-ARNt (Site A) d'*Escherichia coli* et des antibiotiques de la famille des aminoglycosides ont été résolues à haute résolution. Chaque fragment d'ARN adopte une conformation en hélice comportant deux sites A non symétriques, insérés entre des paires Watson-Crick.

Les aminoglycosides possèdent deux, trois ou quatre sucres fonctionnalisés par des groupements ammonium reliés par des liaisons glycosidiques aux positions 4 et 5 d'un cycle 2-déoxystreptamine. La comparaison entre les structures d'une dizaine de complexes révèle les interactions moléculaires impliquées dans la liaison à l'ARN. Malgré la diversité structurale et stéréochimique des aminoglycosides, les structures présentent toutes une même conformation pour le site A : deux adénines A1492 et A1493 pointent à l'extérieur de l'hélice tandis que le cycle I des antibiotiques s'empile sur la guanine G1491 et forme une pseudo paire de bases avec l'adénine A1408. L'ensemble des contacts observés, directs ou médiés par des molécules d'eau, sont en accord avec les données issues des expériences de mutation, de protection et permettent d'expliquer non seulement l'origine de l'action biologique de ces composés mais également l'émergence de plusieurs mécanismes de résistance aux antibiotiques.

Vicens, Q. and E. Westhof (2001). Crystal structure of paromomycin docked into the eubacterial ribosomal decoding A site. *Structure* 9(8): 647-658.

Vicens, Q. and E. Westhof (2003). Molecular recognition of aminoglycoside antibiotics by ribosomal RNA and resistance enzymes: An analysis of x-ray crystal structures. *Biopolymers* 70(1): 42-57.

Vicens Q. and Westhof E. (2003) RNA as a drug target : the case of aminoglycosides. *ChemBioChem*, 4, 1018-1023.

---

## NOTES

## UNUSUAL DNA STRUCTURES AND TELOMERASE INHIBITORS

L. Guittat<sup>1</sup>, A. De Cian<sup>1</sup>, P. Alberti<sup>1</sup>, D. Gomez<sup>2</sup>, F. Rosu<sup>3</sup>, J.-F. Riou<sup>2</sup>, P. Mailliet<sup>4</sup>, L. Lacroix<sup>1</sup>  
et J.-L. Mergny<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Labo de Biophysique, INSERM U565, CNRS UMR5153, Museum National d'Histoire Naturelle, 43 rue Cuvier,  
75005 Paris, France

<sup>2</sup>Onco-Pharmacologie, Université de Reims Champagne-Ardenne, France.

<sup>3</sup>Laboratoire de Biospectroscopie, Université de Liège, Belgique.

<sup>4</sup>Aventis Pharma SA, Quai Jules Guesde, 94805 Vitry/Seine, France.

Telomerase is overexpressed in tumour cells and thus may be proposed as an attractive target for anticancer agents. Several strategies have been implemented in order to inhibit telomerase. Telomeric DNA is prone to structural polymorphism: its three-dimensional structure can differ markedly from the classical double helix. The 3' G-rich telomeric overhang may adopt an G-quadruplex structure *in vitro* which blocks telomerase. Agents that stabilize G-quadruplexes have the potential to interfere with telomere replication and can therefore act as antitumor agents. We have identified by FRET several series of G4 ligands that also exhibit potent and specific anti-telomerase activity with IC<sub>50</sub> in the nM concentration range (1,2). A DNA nanomolecular machine has been designed based on a duplex-quadruplex equilibrium (3,4). Specific recognition of a G-quadruplex conformation was demonstrated by equilibrium dialysis and ESI-MS (5). Long term treatment of tumor cells with triazines induces a delayed growth arrest that depends on the initial telomere length. Short-term treatment induces a rapid down-regulation of telomerase activity, caused by an alteration of the hTERT splicing pattern (6). Our data show that a G-quadruplex interacting agent is able to impair telomerase function in a tumor cell thus providing a basis for the development of new anticancer agents.

1) Mergny *et al.* *Proc. Natl. Acad. Sci USA* (2001) 98 : 3062

2) Riou *et al.* *Proc. Natl. Acad. Sci USA* (2002) 99 : 2672

3) Alberti & Mergny *Proc. Natl. Acad. Sci USA* (2003) 100 : 1569

4) Alberti & Mergny *Cell. Mol. Biol.* (2004) 50 : 241

5) Rosu *et al.* *Biochemistry* (2003) 42: 10361

6) Gomez *et al.* *Nucleic Acids Res.* (2004) 32: 371

---

## NOTES



# ETUDE DE L'INITIATION DE LA TRANSCRIPTION PAR FLUORESCENCE DE MOLECULES UNIQUES

E. Margeat<sup>1</sup>, A. Kapanidis<sup>2</sup>, N.-K. Lee<sup>2</sup>, P. Tinnefeld<sup>3</sup>, R. Ebricht<sup>4</sup> et S. Weiss<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Adresse actuelle : Centre de Biochimie Structurale - CNRS - INSERM - UM1 - Montpellier

<sup>2</sup>Single molecule Biophysics group - UCLA - USA

<sup>3</sup>Adresse Actuelle : Angewandte Laserphysik und Laserspektroskopie - Universität Bielefeld - Allemagne

<sup>4</sup>HHMI - Rutgers University - USA

Au cours de l'initiation de la transcription, l'ARN polymerase adopte un certain nombre d'états conformationnels inaccessibles à la cristallographie, la RMN, ou aux techniques biochimiques classiques. Les techniques de molécules uniques sont en revanche parfaitement adaptées pour ce type de problème, car elles permettent l'observation directe d'intermédiaires réactionnels. Au cours de ce travail, nous avons développé de nouveaux outils pour observer des complexes uniques ARN polymerase /  $\sigma_{70}$  / ADN lors de leur transition du complexe « ouvert » jusqu'au complexe d'élongation. Nous avons amélioré la technique de FRET (Förster Resonance Energy Transfer) sur molécules uniques en introduisant le principe d'excitation alternée (ALEX) qui permet de s'affranchir des problèmes de marquage incomplet, d'augmenter l'échelle et d'améliorer la mesure des distances entre fluorophores, ou encore de tenir compte de la photophysique des sondes (1). Cet ensemble d'outils, appliqués à l'ARN polymerase, nous a permis de quantifier la dissociation de la sous-unité  $\sigma_{70}$  au cours des premières étapes de l'élongation, et d'observer directement le mécanisme de l'initiation abortive.

1 - Kapanidis, A., Lee, N.-K., Laurence, T., Doose, S., Margeat, E., and Weiss, S. (2004). *Fluorescence-aided molecule sorting. Analysis of structure and interactions by alternating-laser excitation of single molecules. Proc Nat Acad Sci USA* 101, 8936-8941.

---

## NOTES



**PRIX DU JEUNE CHERCHEUR**

# ADAPTATION DE LA DYNAMIQUE MOLÉCULAIRE AUX CONDITIONS EXTRÊMES

M. Tehei, C. Pfister et G. Zaccai

Institut de Biologie Structurale J.P. Ebel, 41 rue Jules Horowitz 38027 Grenoble Cedex France

Le concept de dynamique est issu du Grec Δυναμις et est relatif aux forces. Les forces qui maintiennent la structure biologique et qui gouvernent les mouvements atomiques dans les macromolécules sont “faibles” (liaison hydrogène, forces de Van der Waals, liaisons ioniques et interactions hydrophobes) parce qu'elles sont associées à des énergies thermiques à des températures usuelles. La spectroscopie neutronique est particulièrement adaptée à l'étude de ces mouvements.

Dans quelle mesure, les conditions hyper-salines et les températures extrêmes influencent-elles la dynamique moléculaire? Nous avons analysé tout d'abord la dynamique moléculaire de la malate déshydrogénase halophile de *Haloarcula marismortui* (Hm MalDH), dans des solvants de concentrations molaires de sel, influençant sa stabilité, puis étudié la dynamique moléculaire global *in vivo* dans des bactéries psychrophile (*A. arcticum*), mésophiles (*E. coli*, *P. mirabilis*), et thermophiles (*T. thermophilus*, *A. pyrofilus*).

Nous avons développé une approche de la diffusion de neutrons, qui procure séparément deux informations sur la dynamique d'une macromolécule : les amplitudes des mouvements (flexibilités) du système étudié et sa résilience (rigidité) (1 ; 2).

La rigidité de la Hm MalDH croît progressivement avec l'augmentation de sa stabilité avec des valeurs de la résilience  $\langle k' \rangle$  variant de 0.11 N/m dans 2M NaCl\_H<sub>2</sub>O, en passant par 0.21 N/m dans 2M KCl\_D<sub>2</sub>O jusqu'à 0.51 N/m dans 2M NaCl\_D<sub>2</sub>O. Les résultats montrent que l'adaptation de la Hm MalDH à des conditions hyper-salines s'est faite par une augmentation de la rigidité de sa structure, dominée par des mécanismes enthalpiques (2).

Les valeurs de la résilience  $\langle k' \rangle$  augmentent avec les températures physiologiques de 0.20 N/m pour la psychrophile qui croît à 4°C, à 0.6 N/m pour l'hyper-thermophile (85°C). Pour chaque organisme, la valeur de la flexibilité est similaire à leur température physiologique respective (~1Å dans un temps de 0.1 ns). Ces résultats montrent que l'adaptation des macromolécules *in vivo* dans les bactéries à des conditions extrêmes de températures s'est faite par la une augmentation de la rigidité des structures, permettant une stabilité macromoléculaire à haute température, tout en maintenant une flexibilité dans des limites acceptables pour l'activité biologique (3).

1. G. Zaccai, *Science* 288, 1604-7 (2000).

2. M. Tehei, D. Madern, C. Pfister, G. Zaccai, *Proc Natl Acad Sci U S A* 98, 14356-14361, (2001).

3. M. Tehei *et al.*, *EMBO Rep* 5, 66-70 (2004).

---

## NOTES



# STRUCTURE MOLÉCULAIRE

# LA SIGNATURE CACHÉE DU CYTOCHROME B6F

D. Picot

Institut de Biologie Physico-Chimique - 13, rue Pierre et Marie Curie, 75005 Paris

La détermination structurale du cytochrome  $b_6 f$  procure un des derniers maillons manquants de la chaîne photosynthétique. Dans la photosynthèse oxygénique, les photosystèmes I et II captent l'énergie lumineuse, son utilisation s'effectue par l'intermédiaire du complexe membranaire cytochrome  $b_6 f$  qui couple un transfert d'électrons entre les deux photosystèmes à l'établissement d'un gradient électrochimique de protons à travers la membrane photosynthétique, permettant ainsi la synthèse d'ATP.

Un mécanisme similaire (Q-cycle) existe dans la respiration par l'entremise d'un complexe membranaire partiellement homologue au cytochrome  $b_6 f$ , le cytochrome  $bc_1$ . La structure du complexe  $b_6 f$  a permis à la fois de confirmer cette homologie et de décrire des composantes qui restent énigmatiques.

En effet, le cytochrome  $b_6 f$  recèle une chlorophylle  $a$  et un  $\alpha$ -carotène, dont la fonction reste inconnue. Cependant, le résultat le plus surprenant a été la découverte d'un hème supplémentaire au sein du site réducteur de quinone  $Q_i$ . Cet hème a des propriétés atypiques: une absence de ligand axial protéique, une forte interaction avec l'hème  $b$  du site  $Q_i$  et une localisation à proximité de la face stromale du complexe.

Ces résultats expliquent nombre d'observations discordantes sur le mécanisme du complexe, remettent en scène un acteur déroutant, le cytochrome G (J. Lavergne. 1983. Biochim. Biophys. Acta 725:25), et permettent d'envisager des interactions entre complexes photosynthétiques et d'impliquer le cytochrome  $b_6 f$  dans la réinjection d'électrons dans le transfert cyclique d'électrons autour du photosystème I.

---

## NOTES

## COMPUTER-BASED MODELING OF THE EFFECT OF MTSET REAGENT (METHANETHIOSULFONATE) ON THE ION FLOW IN IKCa CHANNEL.

M. Simoes<sup>1</sup>, U. Banderali<sup>1</sup>, L. Garneau<sup>1</sup>, H. Klein<sup>1</sup>, B. Roux<sup>2</sup> et R. Sauvé<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Département de physiologie, Groupe d'étude des protéines membranaires, Faculté de médecine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada H3C 3J7

<sup>2</sup>Department of Biochemistry, Weill Medical College of Cornell University, New-York, USA

The Substituted Cysteine Accessibility Method (SCAM) and computer based modeling were used to investigate key structural features of the S6 transmembrane segment of the calcium activated K<sup>+</sup> channel of intermediate conductance IKCa (KCa3.1). A 3-D model of IKCa was computer-generated through homology modeling using the MthK structure as templates. The resulting model provided testable predictions on the nature of the residues lining the channel pore. These in turn were compared to the structural data coming from SCAM experiments, where the water accessibility of cysteine residues engineered at each position along the S6 segment was tested with hydrophilic thiol reagents such as the positively charged MTSET. To relate our SCAM results to the structural model proposed for the open IKCa we used a modeling approach where the MTSET reagent was explicitly incorporated into the channel 3D-structure and compute the resulting steric and electrostatic effects on ion flow (using the biomolecular simulation program CHARMM).

In accordance with the SCAM results, our calculations show that the MTSET molecules bonded to the 275C, 278C and 282C residues should be pointing toward the ion conduction axis and sterically obstructing ion flow. Our results also indicate that the decrease in unitary conductance measured with the A283C, V284V, V285C and A286C mutants following MTSET exposure can be accounted for by the added positive charges associated with MTSET binding. Homology modeling combined with bio-computational analyses constitute therefore a valuable approach to translate results from SACM experiments into relevant structural data on functional proteins.

---

### NOTES



# EFFET DE LA MODIFICATION DE L'ENVIRONNEMENT MEMBRANAIRE SUR LE COMPORTEMENT STRUCTURAL D'UN CANAL MÉCANOSENSIBLE, LE MscL

H. Valadié<sup>1</sup>, A. Stadler<sup>2</sup> et C. Etchebest<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Biophysique Moléculaire et Cellulaire, UMR 5090, 17 Rue des Martyrs F38041 Grenoble

<sup>2</sup>Equipe de Bioinformatique Génomique et Moléculaire, EMI 0346, 2 Place Jussieu F75021 Paris

Le rôle de la membrane dans le mécanisme d'ouverture des canaux mécanosensibles est primordial. Dans le cas du canal MscL, il semble admis que les déformations du canal lors de son ouverture s'effectueraient via des changements des propriétés structurales et physiques de la membrane environnante. L'étirement que subit la membrane, provoquant alors l'ouverture de ces canaux, se traduit par une diminution de son épaisseur concomitante à une augmentation de sa courbure. Chacun des 2 effets (courbure et épaisseur) peut être conceptualisé et étudié séparément dans un premier temps par des outils de modélisation moléculaire. Compte tenu de résultats expérimentaux récents sur l'effet certain de la diminution de l'épaisseur de la membrane sur l'activité du MscL, nous nous sommes attachés à évaluer l'impact d'une telle diminution sur le comportement structural et dynamique du canal MscL.

Des simulations de dynamique moléculaire ont été conduites afin d'étudier le comportement structural et dynamique du canal MscL 1) dans une membrane d'épaisseur voisine d'une membrane sans tension appliquée, ainsi que 2) dans une membrane d'épaisseur réduite. Les têtes polaires des lipides utilisées sont identiques afin de quantifier l'effet direct d'une diminution de l'environnement hydrophobe sur le canal MscL.

Cette analyse montre que le MscL de *E.coli* s'adapte à un milieu membranaire différent en changeant de manière notable sa conformation: dans une bicouche plus fine, la structure du canal MscL s'écrase, écrasement qui résulte d'une inclinaison notable de certaines hélices transmembranaires, et de pliures d'hélices  $\alpha$  dans des régions cibles, caractérisées dans des études parallèles.

---

## NOTES

# UTILISATION DES MODES NORMAUX DANS L'AFFINEMENT DE MODELES STRUCTURAUX D'ASSEMBLAGES MACROMOLECULAIRES CONTRE DES DONNEES DE CRISTALLOGRAPHIE OU DE MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

M. Delarue

Unite de Biochimie Structurale, URA 2185 du CNRS, Institut Pasteur, 25 rue Dr Roux, 75015 Paris

As more and more structures of macromolecular complexes get solved in different conditions, it has become apparent that flexibility is an inherent part of their biological function. Normal mode analysis using simplified models of proteins such as the elastic network model has proved very effective in showing that many of the structural transitions derived from a survey of the Protein Data Bank can be explained by just a few of the lowest-frequency normal modes. In this work, normal modes are used to carry out medium- or low-resolution structural refinement, enforcing collective and large-amplitude movements that are beyond the reach of existing methods. Refinement is carried out in reciprocal space with respect to the normal mode amplitudes, by using standard conjugate-gradient minimization. Because the structural transition is described by very few parameters, over-fitting of real experimental data is easily detected by using a cross-validation test.

The method has also been applied to the refinement of atomic models into molecular envelopes and could readily be used to fit large macromolecular complex rearrangements into cryo-electron microscopy-reconstructed images as well as small-angle x-ray scattering-derived envelopes.

In addition to these reciprocal-space approaches, a number of other applications in normal 3D space will be presented, including the refinement of structural alignments between 2 proteins with a different number of residues, as well as applications in protein-protein docking procedures.

## Reference

M. Delarue M, P. Dumas, Proc Natl Acad Sci U S A. 2004 May 4;101(18):6957-62

---

## NOTES

# DYNAMIQUE STRUCTURALE

## APPROCHE MULTI-TECHNIQUES DE LA DYNAMIQUE DE TRANSFORMATION STRUCTURALE DU TOMATO BUSHY STUNT VIRUS

R. Aramayo<sup>1</sup>, C. Mérigoux<sup>2</sup>, E. Larquet<sup>1</sup>, P. Bron<sup>3</sup>, J. Pérez<sup>4</sup>, P. Vachette<sup>2</sup> et N. Boisset<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de minéralogie Cristallographie de Paris, UMR7590 CNRS, Universités Paris 6, Paris 7, et IPGP, Case postale 115, 4 Place Jussieu, 75252 Pa

<sup>2</sup>IBBMC, Batiment 430, Université Paris-Sud, 91405 ORSAY Cedex, France

<sup>3</sup>UMR 6026 Interactions Cellulaires et Moléculaires, Université de Rennes 1, Campus de Beaulieu, Bt 13, 35042 Rennes Cedex

<sup>4</sup>Synchrotron SOLEIL, L'Orme des Merisiers, Saint-Aubin - BP 48, 91192 GIF-sur-YVETTE CEDEX

Ce virus se présente sous la forme de particules isométriques au contour arrondi d'environ 30 nm de diamètre. Les particules virales contiennent un ARN simple brin positif de 4.7 Kb et une protéine constitutive unique de capsid (386 a.a) de poids moléculaire de 41 kDa. L'analyse par cristallographie X à haute résolution de la structure de la forme compacte du TBSV montre que les sous unités obéissent à une symétrie icosaédrique stricte avec une quasi-équivalence (T=3) (Harrison *et al.*, Nature, 1978 276: 368). Chaque sous-unité contient un domaine S, faisant partie de la surface de la coque, un domaine P, qui se projette à l'extérieur, et un bras aminé terminal qui va vers l'intérieur. La stabilité des particules dépend des contacts des dimères de domaine P qui sont très stables et des interactions des sous-unités entre les domaines S. La force de ces derniers contacts est augmentée par des ions Ca<sup>2+</sup> (deux pour chaque paire de sous-unités agissant l'une sur l'autre). L'élimination du Ca<sup>2+</sup> à pH neutre induit le gonflement réversible des particules. Dans ce projet, une approche hybride utilisant à la fois les données de diffusion des rayons X aux petits angles et la cryomicroscopie électronique sur spécimen congelé-hydraté a été tentée pour étudier la dynamique du mécanisme de transformation entre les structures compactes et gonflées du virus.

---

### NOTES

# ETUDES BIOCHIMIQUES ET BIOPHYSIQUES DE LA DYNAMIQUE STRUCTURALE ET CONFORMATIONNELLE DE LA FIBRONECTINE PLASMATIQUE HUMAINE

S. Patel<sup>1</sup>, A. Chaffotte<sup>2</sup>, F. Goubard<sup>3</sup> et E. Pauthe<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ERRMECE, Université de Cergy-Pontoise, 95302 Cergy-Pontoise cedex, France

<sup>2</sup>Institut Pasteur, 28 rue du Dr. Roux, Paris, France

<sup>3</sup>LPPI, Université de Cergy-Pontoise, 95301 Cergy-Pontoise cedex, France

La fibronectine, glycoprotéine dimérique multidomaine de haute masse moléculaire ( $\approx 450$  kDa, 28 modules par chaîne), coexiste *in vivo* sous forme soluble (dans le plasma) ou sous forme insoluble (au sein de la matrice extracellulaire) où elle peut, suite à des dépliements partiels, s'auto-assembler pour former des réseaux fibrillaires.

Les travaux que nous développons ont comme objectif, d'une part de mieux maîtriser la stabilité et la dynamique structurale et conformationnelle de cette macromolécule de l'adhérence cellulaire, et d'autre part de mettre en évidence l'importance de la dynamique interne de cette molécule dans sa capacité à s'organiser ou à être organisée dans des assemblages supramoléculaires "actifs" sur les cellules.

Par l'association de multiples approches expérimentales nous avons analysé, à différentes échelles d'observation, les processus de dépliement et de repliement de cette molécule -induit par l'urée dans différentes conditions de force ionique-.

Les principaux résultats développés ici mettent en évidence :

- L'existence d'un processus global de dépliement de la fibronectine impliquant systématiquement 4 étapes, mais avec des énergies de transition entre les états fortement dépendantes de la force ionique.
- A la fois des différences et des similitudes dans l'organisation structurale et conformationnelle des formes renaturées de la fibronectine par rapport à la molécule native.

Ces différences conformationnelles subtiles conduisent à des propriétés d'auto association des différentes formes de fibronectine en solution très différente : de type agrégat amorphes ou fibres amyloid-like.

---

## NOTES

# MISE EN ÉVIDENCE DU COUPLAGE ENTRE TRANSITION VITREUSE DU SOLVANT ET ACTIVITÉ ENZYMATIQUE DE LA PROTOCHLOROPHYLLIDE OXYDORÉDUCTASE

G. Durin<sup>1</sup>, A. Royant<sup>1</sup>, D. Heyes<sup>3</sup> et D. Bourgeois<sup>1</sup>

<sup>1</sup>LCCP, UMR 9015, IBS, 41 avenue Jules Horowitz, 38027 Grenoble Cedex 1, France

<sup>2</sup>ESRF, 6 rue Jules Horowitz, BP 220, 38043 Grenoble Cedex, France

<sup>3</sup>Krebs Institute and R Hill Institute for Photosynthesis, The University of Sheffield, Sheffield S10 2TN, UK

La protochlorophyllide oxydoréductase (POR) catalyse la réduction de la protochlorophyllide en chlorophyllide en présence de NADPH, pénultième étape dans la synthèse de la chlorophylle. Cette enzyme présente la particularité d'être l'une des deux seules connues à requérir de la lumière pour déclencher la catalyse. La réaction s'effectue en quelques nanosecondes à température ambiante. Lors de la catalyse, des états intermédiaires se forment, dont les propriétés spectroscopiques remarquables (fluorescence et absorption) sont facilement utilisables pour caractériser l'avancement de la réaction, en particulier dans un cristal.

Nous avons travaillé en solution à caractériser la formation de ces états intermédiaires en fonction de la température et de la composition du solvant, en utilisant la technique de Temperature Derivative Fluorescence Microspectroscopy. Ces études ont permis d'établir de façon simple et élégante que la « transition vitreuse » du solvant (passage d'un état amorphe, très rigide, à un état plus fluide), aux alentours de 180 K est l'élément déclenchant la formation d'un intermédiaire fluorescent à 684 nm. La production de cet intermédiaire résulte probablement d'un changement conformationnel de la POR requérant une flexibilité qui n'est pas permise en dessous de la « transition dynamique » de la protéine (en dessous de laquelle seuls des mouvements harmoniques sont possibles). Cette étude montre donc, dans le cas de la POR, la présence d'un couplage direct entre transition vitreuse du solvant et transition dynamique de la protéine, alors même que l'existence de tels couplages fait encore aujourd'hui l'objet de vifs débats.

---

## NOTES



**SESSION DE CLÔTURE**



# **NOUVEAUX DÉVELOPPEMENTS EN SPECTROSCOPIE DE RÉSONANCE MAGNÉTIQUE (SRM) À HAUT CHAMP. APPLICATIONS AU PETIT ANIMAL (RAT, SOURIS).**

**J.-C. Beloeil**

Centre de Biophysique Moléculaire - CNRS UPR 4301 - rue Charles Sadron - 45071 Orléans cedex 2

La Spectroscopie de Résonance Magnétique (SRM) ajoute à l'imagerie par Résonance Magnétique (IRM) une information biochimique sur le métabolome; elle bénéficie des mêmes avantages que l'IRM : c'est une méthode d'investigation des milieux vivants, atraumatique et non-invasive. La SRM voit actuellement son intérêt s'accroître avec l'élévation des champs magnétiques disponibles sur les spectromètres-imageurs. Ces champs plus élevés conduisent à un accroissement de la sensibilité et de la résolution, mais impliquent également des réglages d'homogénéité plus délicats. La suppression sélective du signal de H<sub>2</sub>O pouvant être considérée comme assez bien résolue; il reste deux problèmes principaux : la localisation de la mesure et l'extraction de l'information contenue dans les spectres. Nous apportons de nouvelles solutions à ces problèmes : la multilocalisation (simultanée) de la mesure et le développement de séquences d'impulsions de spectroscopie homo et hétéro nucléaire à une ou deux dimensions de fréquence. Des applications au petit animal (rat, souris) seront présentées.

---

## **NOTES**



## **COMMUNICATIONS PAR AFFICHES**

## Affiche 1

### STRUCTURE DE LA SUPEROXYDE RÉDUCTASE LIÉE AU FERROCYANURE, ET EXPANSION DU SITE ACTIF INDUITE PAR PHOTO-RÉDUCTION.

V. Adam<sup>1</sup>, A. Royant<sup>2</sup>, V. Nivière<sup>3</sup>, F. P. Molina-Heredia<sup>3</sup> et D. Bourgeois<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ESRF (Installation Européenne de Rayonnement Synchrotron), BP 220, 38043 Grenoble Cedex, France

<sup>2</sup>LCCP, IBS-CEA/CNRS/UJF, UMR 5075, 41 avenue Jules Horowitz, 38027 Grenoble, Cedex 1, France

<sup>3</sup>CBCRB, UMR 5047, DRDC-CEA/CNRS/UJF, 17 avenue des Martyrs, 38054 Grenoble, Cedex 9, France

Certaines bactéries sulfatoréductrices et microaérophiles utilisent l'enzyme superoxyde réductase (SOR) pour éliminer l'anion radicalaire superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ). La SOR catalyse la réduction à un électron du  $O_2^{\cdot-}$  en peroxyde d'hydrogène, par l'intermédiaire d'un centre à fer ferreux non hémique. Les structures de la SOR de *Desulfoarculus baarsii* (mutant E47A) seule et en complexe avec le ferrocyanure ont été résolues à 1.15 et 1.7 Å de résolution, respectivement. Cette dernière structure, la première jamais rapportée d'un complexe entre un composé organométallique et une protéine révèle que le ferrocyanure bouche entièrement le site actif, en se coordinant au fer actif via un pont cyanure. Étonnamment, les données biochimiques ne montrent qu'une réduction modeste de l'activité SOR quand le ferrocyanure est ajouté, suggérant que le complexe reste capable de réagir avec  $O_2^{\cdot-}$  en adoptant un mécanisme de réduction alternatif. Les différences structurales subtiles entre les espèces SOR-ferrocyanure à valence mixte et totalement réduite ont été étudiées en tirant profit des photoélectrons induits par les rayons X. La photo-réduction du site actif de la SOR a été suivie en temps réel par microspectrophotométrie d'absorption en ligne, et s'est avérée être un processus très rapide sous un faisceau synchrotron puissant. L'analyse de jeux de données composites a montré que la photo-réduction du centre à fer de Fe(III) à Fe(II) induit une expansion significative du site actif de la SOR.

---

## NOTES

## Affiche 2

### APPLICATION DE LA SPECTROSCOPIE IRTF A L'ETUDE COMPARATIVE DE SOUCHES DE *C. ALBICANS* SEPTICEMIQUES, COLONISANTES ET COMMENSALES

I. Adt<sup>1</sup>, G. Sockalingum<sup>1</sup>, F. Dalle<sup>3</sup>, A. Kohler<sup>4</sup>, A. Bonnin<sup>3</sup>, J.-M. Pinon<sup>2</sup>, M. Manfait<sup>1</sup> et D. Toubas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Unité MéDIAN CNRS UMR 6142, UFR Pharmacie, IFR 53, Université de Reims Champagne Ardenne, 51 rue Cognacq-Jay, 51096 Reims CEDEX

<sup>2</sup>Laboratoire de Parasitologie-Mycologie EA3800, UFR Médecine, IFR 53, Université de Reims, 51 rue Cognacq-Jay, 51096 Reims CEDEX

<sup>3</sup>Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Hôpital du Bocage, BP 77908, 21079 Dijon CEDEX

<sup>4</sup>Norwegian Food Research Institute, Matforsk, 1430 Ås, Norvège

Les techniques classiques d'identification des levures cliniques, basées sur des méthodes phénotypiques (morphologiques, biochimiques...), sont limitées par leur faible discrimination. Parmi les méthodes alternatives, la spectroscopie IRTF, technique d'investigation rapide, simple, non-destructive, peu coûteuse, nécessitant un faible volume d'échantillon, est applicable à tous les microorganismes cultivables tant pour la détermination du genre que de l'espèce. De plus, le fort pouvoir discriminant de cette technique permet de réaliser le typage intraespèce de *C. albicans*.

Dans ce travail, nous avons étudié la capacité de l'IRTF à distinguer des souches de *C. albicans* de 3 origines cliniques : saprophytes, colonisantes ou septicémiques. En effet, cette levure opportuniste se développe en commensale des muqueuses chez l'homme bien portant mais peut coloniser les tissus de façon massive voire entraîner des septicémies chez des individus fragilisés. Bien que ces 3 groupes soient très différents d'un point de vue médical, les souches étudiées s'avèrent très proches (une analyse moléculaire ne permet pas de les distinguer). Il a donc été nécessaire d'utiliser les outils d'analyse statistique suivants : la PLSR (« Partial Least Squares Regression ») d'une part et l'analyse discriminante (associée à une analyse canonique) d'autre part. Les premiers résultats sont encourageants : 93% des souches testées sont correctement classées. L'élargissement de l'étude à un échantillonnage plus important ainsi que l'apport de nouveaux outils statistiques pourraient permettre d'améliorer ces résultats.

---

## NOTES

## Affiche 3

### CARACTÉRISATION TISSULAIRE ET INFLUENCE DE MÉDICAMENTS ANTICANCÉREUX SUR UN MODÈLE DE GLIOME : ETUDE PAR MICROSCOPTE OPTIQUE

N. Amharref<sup>1</sup>, S. Dukic<sup>1</sup>, A. Beljebbar<sup>1</sup>, L. Venteo<sup>2</sup>, M. Pluot<sup>2</sup> et M. Manfait<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unité MÉDIAN CNRS, UMR 6142, UFR de Pharmacie, Université de Reims, 51096 Reims Cedex, France

<sup>2</sup>Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques, Chu Robert Debré, 51092 Reims Cedex, France

Les tumeurs cérébrales primitives font parti des types de cancer les plus dévastateurs. Malgré l'arsenal thérapeutique dont dispose le clinicien, ces tumeurs restent difficiles à diagnostiquer et leur traitement représente un défi. La chirurgie des tumeurs cérébrales est actuellement le traitement de première importance, cependant le caractère infiltrant de ces tumeurs entraîne le plus souvent une exérèse incomplète et dans la majorité des cas une récurrence. D'autre part, si la chimiothérapie permet une augmentation significative de la survie après résection totale ou subtotale, son efficacité reste limitée. Ce manque d'efficacité pourrait résulter d'une distribution limitée du médicament au sein du tissu tumoral et péri tumoral.

Les microscopies, techniques sensibles aux changements de composition et de conformation moléculaire, permettraient d'identifier la zone tumorale ainsi que ses limites. En effet, la progression d'un tissu tumoral au sein du tissu cérébral est un processus qui entraîne des altérations moléculaires. Ces techniques pourraient également fournir des informations sur les mécanismes impliqués dans le passage cellulaire et tissulaire du médicament ainsi que sur les facteurs susceptibles de moduler sa distribution.

Les études microscopiques ont été menées, *in vitro*, sur des cellules C6 soumises à différents traitements anticancéreux et *ex vivo*, sur des coupes de cerveaux de Rat porteurs de gliome C6, traités par ces mêmes anticancéreux. Des différences spectrales significatives ont permis de caractériser les tissus sain et tumoral et de visualiser des modifications imputables au traitement chimiothérapeutique.

---

## NOTES

## Affiche 4

### ETUDE DE LA SOLVATATION DES PROTEINES

C. Azuara<sup>1</sup>, H. Orland<sup>2</sup> et M. Delarue<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unité de Biochimie Structurale, URA 21 85 (C.N.R.S.) Institut Pasteur 25, rue du docteur Roux 75724 Paris Cedex

<sup>2</sup>Service de Physique Theorique, CE - Saclay 91191 Gif-sur-Yvette Cedex

Les études électrostatiques effectuées sur les protéines sont souvent obtenues à partir de la résolution de l'équation de Poisson - Boltzmann (PB), avec une représentation continue du solvant. La représentation implicite du solvant diminue de façon drastique le temps de calcul CPU par rapport à une représentation explicite au sein d'une dynamique moléculaire. De plus, de nombreuses études ont montré que les résultats donnés par PB étaient en accord avec l'expérimentation. Enfin, PB est largement utilisé pour calculer des différences d'énergies libres de binding entre protéine et ligand, le calcul des pKa's et les propriétés d'oxydo-réduction des protéines. Nous présentons une équation de PB modifiée (MPB), qui incorpore des ions et des dipôles mobiles implicites et de tailles finies. Nous nous affranchissons ainsi des problèmes d'attribution des constantes diélectriques de la protéine (en général entre 1 et 8) et du solvant (80) en prenant  $\epsilon = 1$  pour tout le système. La fonction de partition du système qui tient compte de cette représentation dipolaire du solvant, nous permet d'écrire une fonctionnelle d'énergie libre. Cette fonctionnelle est maximisée par rapport au potentiel électrostatique grâce à un algorithme de Multi-grille incluant des itérations de Newton-Raphson pour les termes non linéaires. La résolution de cette équation MPB nous permet d'obtenir la densité d'ions et de dipôles mobiles, ainsi que le profil diélectrique du système. Cette approche nous permet aussi d'étudier des solvants plus compliqués comme des mélanges de dipôles ayant des moments dipolaires permanents et des volumes différents. Différentes applications aux protéines seront présentées.

---

## NOTES

## Affiche 5

### REDUCTION DES PROTEINES PAR L'ELECTRON HYDRATE : EFFET DE LA PRESSION

C. Bataille<sup>1</sup>, G. Baldacchino<sup>1</sup>, R. Cosson<sup>2</sup>, M. Coppo<sup>3</sup>, C. Trehen<sup>3</sup>, G. Vigneron<sup>1</sup> et S. Pin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Radiolyse, DSM/DRECAM/SCM/URA 331 CNRS, CEA/Saclay, 91191 Gif/Yvette cedex, France

<sup>2</sup>ISOMer/UPRES-EA 2663, Laboratoire de Biologie Marine, Faculté des Sciences et Techniques, Université de Nantes, BP 92208, 44322 NANTES, France

<sup>3</sup>Laboratoire d'Analyses Nucléaires, Isotopiques et Élémentaires, DEN/DPC/SECR, CEA/Saclay, 91191 Gif/Yvette cedex, France

Un métabolisme pathologique, le vieillissement ou des agents chimiques exogènes (médicaments, alcool, tabac, métaux) peuvent conduire, sous l'effet sensibilisateur de l'oxygène, à une production non régulée des Espèces Activées de l'Oxygène. Ces espèces radicalaires très réactives vont réagir avec leur environnement et induire un stress oxydant. La radiolyse de l'eau est l'outil idéal pour générer les EAO et étudier les mécanismes impliqués dans leurs réactions avec les macromolécules.

Des études de structure, de dynamique et de réactivité des protéines sont développées dans des conditions de température et de pression extrêmes. Nous présentons, ici, nos premières expériences de biochimie radicalaire sous pression. Notre première approche, plus physico-chimique, utilise la pression comme un outil afin de mieux comprendre le comportement (structure, compressibilité, interactions intermoléculaires) des protéines. La seconde, plus biologique, cherche à comprendre les mécanismes de résistance des organismes vivant en conditions extrêmophiles capables de se développer dans des conditions inhabituelles : température, pression et pH extrêmes, salinité, métaux, radioactivité.

Cette affiche expose les premiers résultats obtenus quant à l'influence de la pression sur les réactions de l'électron hydraté avec les protéines. Le laboratoire a réalisé une cellule d'irradiation permettant de travailler à haute température (> 100 °C) et à haute pression (jusqu'à 100 MPa). Les expériences ont été menées sur deux systèmes protéiques : la myoglobine et les métallothionéines. Les résultats expérimentaux sont détaillés.

---

## NOTES



## Affiche 6

# TRANSFERT D'ÉLECTRON ENTRE CYTOCHROME C<sub>552</sub> ET MODÈLES DE SON PARTENAIRE OXYDANT : ETUDE PAR SPECTROMÉTRIES DE VIBRATION ET ÉLECTROCHIMIE

S. Bernad, S. Noinville et S. Lecomte

LADIR, CNRS/UPMC 2 rue Henri Dunant, F-94320 Thiais

Notre objectif est de comprendre à l'échelle moléculaire les différentes interactions gouvernant le transfert d'électron entre le cytochrome *c*<sub>552</sub> issu de la bactérie *Thermus thermophilus* et son partenaire biologique la *ba*<sub>3</sub>-oxydase. Afin de mimer une reconnaissance de surface, nous avons élaboré des surfaces modèles constituées d'électrodes d'argent greffées de chaînes alkyles fonctionnalisées. Notre méthodologie consiste à sonder les changements structuraux spécifiques de l'hème où se passe le transfert d'électron (Fer II &UnknownEntity; Fer III) induits par l'adsorption du cytochrome *c*<sub>552</sub> sur nos surfaces. Nous utilisons la spectroscopie Raman résonnante exaltée de surface (SERRS) couplée à un montage électrochimique pour obtenir simultanément des informations structurales, thermodynamiques et cinétiques au niveau de l'hème du cytochrome *c*<sub>552</sub> adsorbé sur chaque surface fonctionnalisée.

A la différence des autres cytochromes *c*, le modèle électrostatique, formé d'une surface d'acide carboxylique, n'est pas adapté pour le cytochrome *c*<sub>552</sub>. Une surface mixte, hydrophobe et polaire non chargée, semble en revanche être un modèle satisfaisant de la *ba*<sub>3</sub>-oxydase.<sup>1</sup> En effet, la cinétique de transfert est rapide et l'orientation de l'hème sur la surface très homogène. Actuellement, nous évaluons par spectrométrie ATR-FTIR (sur cristal de silicium fonctionnalisé) les variations de structure secondaire du cytochrome *c*<sub>552</sub> au contact de nos surface modèles, afin de mieux comprendre les systèmes de reconnaissance cytochrome *c*<sub>552</sub>/*ba*<sub>3</sub>-oxydase.

<sup>1</sup>S. Bernad, T. Soulimane, S. Lecomte, *J. Raman Spectrosc.*, 35, 47-54 (2004).

---

## NOTES

## Affiche 7

### INTERACTIONS SPÉCIFIQUES ENTRE LE RÉCEPTEUR AUX ŒSTROGÈNES ET SES SÉQUENCES ERE :

A. Bouter, V. Le Tilly, J. Wolff et O. Sire

Université de Bretagne-Sud - L2PIC, CER Y. Coppens, Campus de Tohannic, BP573, 56017 Vannes CEDEX

L'expression d'un grand nombre de gènes impliqués dans la croissance, la différenciation cellulaire et les fonctions reproductrices est sous le contrôle d'œstrogènes. L'action des œstrogènes est médiée par le récepteur aux œstrogènes (ER). La régulation des gènes cibles résulte de la fixation du récepteur à une séquence cible sur l'ADN, appelée Élément de Réponse aux œstrogènes (ERE). La séquence ERE présentant la plus forte affinité pour le récepteur a été identifiée comme étant:  ${}^5\text{AGGTCAnnnTGACCT}^3$ . De façon surprenante, de nombreux gènes œstrogène-dépendants possèdent des motifs de reconnaissance s'écartant de cette séquence optimale et présentant une affinité moindre pour le récepteur. La question des enjeux de cette dégénérescence est donc posée.

Par des approches combinées de biologie moléculaire et de biophysique moléculaire et cellulaire, nous avons mené une étude comparative des propriétés de fixation du récepteur aux œstrogènes sur la séquence ERE optimale (EREcs) et sur une séquence dégénérée (ERert). Les paramètres énergétiques et cinétiques caractérisant la fixation du récepteur aux œstrogènes humain (hER) à ces séquences nucléotidiques cibles ont été mesurés par anisotropie de fluorescence. Aux faibles concentrations salines ( $I = 80 \text{ mM}$ ), les constantes d'équilibre sont similaires ( $K_D \approx 2 \text{ nM}$ ) quelle que soit la séquence ERE. En revanche, aux plus fortes concentrations salines ( $I \geq 140 \text{ mM}$ ), l'affinité du complexe hER-EREcs n'est pas modifiée alors que celle du complexe hER-ERert est fortement diminuée. Des mesures cinétiques (à  $I = 140 \text{ mM}$ ) montrent que le complexe spécifique hER-ERert présente un temps de vie plus court ( $\approx 19 \text{ s}$ ) -et donc une stabilité plus faible- que le complexe hER-EREcs (33 s). Des études de dynamique moléculaire (extinction de fluorescence) montrent que le récepteur aux œstrogènes est plus contraint au sein du complexe le moins affiné, hER-ERert.

Ces résultats montrent que stabilité et flexibilité sont corrélées à l'affinité des complexes moléculaires. Les aspects dynamiques et cinétiques doivent donc nécessairement jouer un rôle dans la régulation transcriptionnelle. Ils ouvrent aussi la porte vers le criblage de nouveaux anti-œstrogènes qui pourraient être sélectionnés d'après leur impact sur les contraintes intra-moléculaires.

---

## NOTES

## Affiche 8

# DÉTECTION ET MANIPULATION PHOTONIQUE DE MOLÉCULES INDIVIDUELLES APPLIQUÉES À L'ETUDE DES MOUVEMENTS MOLÉCULAIRES ESSENTIELS À LA FONCTION DU RIBOSOME

P. Bouyer<sup>1</sup>, C. Mauroy<sup>1</sup>, N. Soler<sup>1</sup>, D. Fourmy<sup>1</sup>, S. Yoshizawa<sup>1</sup> et N. Westbrook<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire Charles Fabry de l'Institut d'Optique Bat 503, centre scientifique, 91403 Orsay Cedex

<sup>2</sup>Laboratoire de RMN, Institut de chimie des substances naturelles Avenue de la Terrasse, Bât 27, F-91198  
GIF-SUR-YVETTE CEDEX

Le ribosome est une machine moléculaire responsable de la synthèse des protéines. Des mouvements des sous-unités ribosomales, de facteurs protéiques et des substrats sont essentiels à la biosynthèse des protéines. Notre but est de comprendre les bases structurales de ces mouvements et notamment du processus de translocation. Nous développons ainsi une combinaison de plusieurs techniques pour étudier ce mécanisme. La vitesse de translocation au sein d'un ribosome peut être mesurée par des techniques optiques à haute résolution. De telles mesures apportent des informations nouvelles qui sont inaccessibles par les outils habituels. Pour cette mesure, une molécule d'ARN messager sera marquée à l'une de ses extrémités par une bille de polystyrène et mise en contact avec une surface contenant des ribosomes immobilisés. La vitesse de déplacement des billes reflète la vitesse de translocation et de lecture du message génétique inscrit sur l'ARN messager. La dépendance de la vitesse de translocation en fonction de l'application d'une force sera mesurée en maintenant la bille immobile dans des pinces optiques. S'agissant de mouvements moléculaires à grande échelle, les échelles de temps, sont bien adaptées à une étude par détection de molécules uniques. Les marqueurs associés à des sous-unités différentes permettront de mesurer des mouvements relatifs grâce à la technique FRET. De plus, le marquage d'un acide aminé spécifique dans la chaîne polypeptidique (Lysine marquée par BODIPY) devrait permettre d'observer en temps réel, via la variation de la fluorescence, la cinétique de cette synthèse. Nous présentons ici les progrès dans cette étude, et en particulier la caractérisation des propriétés du BODIPY.

---

## NOTES

## Affiche 9

### DOES THE LOW INTRACELLULAR UPTAKE OF MITOXANTRONE IN BCRP/MXR RESISTANT CELLS RELATE A HIGHER DRUG ADSORPTION ON PLASMA MEMBRANE ?

G. Breuzard, J.-F. Angiboust, M. Manfait et J.-M. Millot

Unité MéDIAN CNRS UMR 6142, IFR53, UFR de Pharmacie, 51 rue Cognacq-Jay, 51096 Reims Cedex, France

SERS (Surface-Enhanced Raman Scattering) spectroscopy allowed to gain insight into the adsorption of mitoxantrone (MTX) on the plasma membrane of sensitive (HCT-116 S) and BCRP/MXR resistant (HCT-116 R) cells. Ag<sup>+</sup> colloid has become attractive for investigating the surface of the plasma membrane due to the short-range feature of the SERS enhancement effect. SERS spectra of MTX-treated HCT-116 R reveals a 3-fold higher MTX Raman intensity compared to HCT-116 S. This signal was completely quenched by extracellular DNA that came from MTX adsorption on plasma membrane. The difference of MTX Raman scattering on both cells was MTX dose-dependent. Fluorescence confocal microscopy confirmed a relative MTX emission around plasma membrane for HCT-116 R. An intracellular drug quantification revealed a 2.5-fold lower MTX uptake in HCT-116 R compared to HCT-116 S. To appraise a putative relation between drug uptake and its membrane adsorption, cells were treated with benzyl alcohol (BA) or chloroform (CF) fluidizers. Their addition revealed a 3-fold decrease of MTX SERS spectra of HCT-116 R exclusively, concluding to a significant decrease of membrane MTX adsorption. Permeation with BA or CF favors both MTX influx and the inhibition of MTX efflux. Therefore, confocal microscopy displayed a better accumulation of MTX inside both cell types with fluidisers. In conclusion, the SERS spectroscopy was a selective analysis method of adsorbed anticancerous drugs at the range of plasma membrane. The higher adsorption on resistant cells could correspond to a change of membrane structure, since a membrane permeation disrupts MTX adsorption on plasma membrane.

---

## NOTES

## Affiche 10

### DÉTECTION OPTIQUE DE PROTÉINES INDIVIDUELLES MARQUÉES PAR DES NANOPARTICULES MÉTALLIQUES DANS DES CELLULES

L. Cognet<sup>1</sup>, C. Tardin<sup>1</sup>, S. Berciaud<sup>1</sup>, G. Blab<sup>1</sup>, D. Choquet<sup>2</sup> et B. Lounis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centre de Physique Moléculaire Optique et Hertzienne - CNRS UMR 5798 et Université Bordeaux 1, 351 Cours de la Libération, 33405 Talence, France

<sup>2</sup>Laboratoire de Physiologie Cellulaire de la Synapse - CNRS UMR 5091 et Université Bordeaux 2, Institut François Magendie, 1 rue Camille Saint-Saëns 33

Les méthodes de détection optique de molécules uniques par microscopie de fluorescence connaissent actuellement un développement spectaculaire. Elles souffrent cependant du phénomène de photoblanchiment ce qui limite drastiquement les durées d'observation. L'utilisation de nanoparticules métalliques très petites chauffées au voisinage de leur résonance plasmon et détectées par un montage optique interférentiel permet de s'affranchir de la limitation liée au photoblanchiment. Nous avons montré récemment qu'il est possible d'utiliser des nanoparticules métalliques pour détecter dans des cellules des protéines individuelles. Nous pouvons maintenant détecter par ces méthodes purement optiques des nanoparticules d'or de 1.4 nm de diamètre.

Référence:

«Single metallic nanoparticle imaging for protein detection in cells»  
L. Cognet, et al *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, (2003) 11350-11355

---

## NOTES

## Affiche 11

### ÉTUDE STRUCTURALE DU COMPLEXE MULTI AMINOACYL-TRNA SYNTHETASE DE MAMMIFÈRE PAR CRYOMICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

M. Cottevieille<sup>1</sup>, L. Guigou<sup>2</sup>, M. Mirande<sup>2</sup>, D. Lévy<sup>3</sup>, É. Larquet<sup>1</sup> et N. Boisset<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Minéralogie et Cristallographie de Paris, CNRS UMR 7590, Universités Paris 6 et Paris 7, 4 place Jussieu, case postale 115, 75252 Paris

<sup>2</sup>Laboratoire d'Enzymologie et Biochimie Structurales, CNRS UPR 9063, 91190 Gif-sur-Yvette, France.

<sup>3</sup>Institut Curie, UMR-CNRS 168 et LRC-CEA 34V, 11 rue Pierre et Marie Curie, 75231 Paris Cedex 05, France.

Les Aminoacyl-tRNA synthetases (ARS) sont une famille d'enzymes responsables de l'attachement covalent spécifique d'un amino-acide sur son ARN de transfert. Chez les eucaryotes supérieurs, certaines de ces enzymes sont regroupées dans un complexe de haut poids moléculaire (>1MDa), le complexe Multi Aminoacyl-tRNA Synthetase (MARS). Ce complexe est constitué de 9 ARS : les Arg-, Asp-, Glu-, Ile-, Leu-, Lys-, Met- et Pro-tRNA synthetases, ainsi que trois peptides non-enzymatiques appelés p43, p38, et p18.

L'architecture et le rôle biologique du complexe MARS sont encore mal compris. La plupart des études menées jusqu'à présent ont concerné l'isolement et la purification de ses constituants individuels. En termes de structure, nous ne disposons pour l'instant que d'un premier volume obtenu par coloration négative et cryomicroscopie électronique, et de fragments de constituants résolus par RMN et cristallographie X. Dans le but d'obtenir une structure globale du complexe MARS, nous avons utilisé la technique de cryo-microscopie électronique sur spécimen congelé-hydraté. Pour mieux stabiliser le complexe très sensible aux forces d'interface air-eau, nous lui avons fait subir un pontage chimique au glutaraldéhyde, suivi d'une adsorption sur monocouche de lipides. Les échantillons ainsi préparés ont été congelés rapidement et observés sous faible dose d'électrons dans un microscope JEM JEOL 2100F. Après numérisation, les images obtenues ont été analysées à l'aide du logiciel SPIDER afin de calculer une nouvelle carte tridimensionnelle de densités.

---

## NOTES

## Affiche 12

### A STRUCTURAL MODEL OF SEVEN TRANSMEMBRANE HELICES RECEPTOR DUFFY ANTIGEN / RECEPTOR FOR CHEMOKINES

A. De Brevern<sup>1</sup>, H. Wong<sup>1</sup>, C. Tournamille<sup>2</sup>, Y. Colin<sup>2</sup>, C. Le Van Kim<sup>2</sup> et C. Etchebest<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Equipe de Bioinformatique Génomique et Moléculaire (EBGM), INSERM E 0346, Université Denis DIDEROT-Paris 7, case 7113, 2, place Jussieu, 75251 Paris,

<sup>2</sup>INSERM U76, Institut National de la Transfusion Sanguine, Paris, France

The Duffy Antigen/Receptor for Chemokines (DARC) is an erythrocyte receptor for malaria parasites (*Plasmodium vivax* and *Plasmodium knowlesi*) and for chemokines. It binds chemokines of both CC and CXC classes. The extracellular region of DARC is characterized by two disulfide bonds and a long N-terminal chain essential for the interaction both with the malaria erythrocyte-binding proteins and the chemokines.

In this study, we have elaborated and analyzed a structural model of the DARC. The construction of the models had begun with a comparative modeling process. The rhodopsin structure was the template. The alignment has been performed using transmembrane prediction, threading, *ab initio*, secondary structure and Protein Blocks approaches. The major point of our approach is the use of experimental data, i.e. 40 mutants have been expressed and their binding of Interleukine-8 (IL8) measured. At the end two models compatible with all the mutant data were selected on the basis of the accessibility of crucial residues. Then, the flexibility of the extracellular loops has been analyzed with more than 100 independent simulated annealing. As a result, the two first extracellular loops are strongly constrained. At the opposite, the N-terminus is highly flexible but seems composed of three regions with a small  $\beta$ -sheet, a linker region and a structured loop. Finally, the docking of two different structures with IL8 permits to analyze the pertinence of the models. The interaction zone predicted is located in the N terminal region, in agreement with experimental results.

The model can now be used for the exploration of the interaction of the DARC "receptor" and the Duffy Binding Protein.

---

## NOTES

## Affiche 13

### MODELISATION MOLECULAIRE DES RECEPTEURS DE L'ANGIOTENSINE II

J. Deville et M. Chabbert

UMR CNRS 6188, Faculté de Médecine, 49045 ANGERS

L'angiotensine II (AngII), un puissant peptide vasoactif, agit par l'intermédiaire de deux récepteurs, ATR1 et ATR2. Ces récepteurs, couplés aux protéines G, ont une structure en sept hélices alpha transmembranaires. La modélisation moléculaire de ces récepteurs est cruciale pour la conception d'agonistes et d'antagonistes sélectifs. Une des étapes limitantes est la modélisation des boucles, en particulier pour la troisième boucle extracellulaire EL3 (15 aa). Nous avons analysé l'ensemble de la famille des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR) pour déterminer une sous-famille possédant des propriétés de séquences similaires au niveau de la boucle EL3. L'analyse de cette sous-famille par le programme Jnet, basé sur les réseaux neuronaux (<http://www.compbio.dundee.ac.uk>), a permis la prédiction de la structure secondaire de la boucle EL3. Celle-ci a été utilisée comme contrainte par le programme de modélisation moléculaire MODELLER (<http://salilab.org>). Les modèles obtenus suggèrent un mécanisme d'ouverture des boucles extracellulaires, permettant la fixation du ligand au niveau de son site actif.

---

## NOTES



## Affiche 14

### SOLVATION, STABILITY AND SOLUBILITY OF HALOPHILIC PROTEINS

C. Ebel<sup>1</sup>, L. Costenaro<sup>2</sup>, A. Irimia<sup>3</sup>, D. Madern<sup>1</sup>, F. Vellieux<sup>1</sup> et G. Zaccai<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IBS, UMR 5075 CEA-CNRS-UJF, 41 rue Horowitz, 38041 Grenoble Cedex, France

<sup>2</sup>present address: John Innes Centre, Norwich, UK.

<sup>3</sup>present address: Sidney Kimmel Cancer Center, San Diego, U.S.A.

To be active, stable and soluble in high salt are major challenges facing proteins in halophilic microorganisms. Through the evolution of their sequences, halophilic proteins have, therefore, evolved specific molecular mechanisms that allow them to be both stable and soluble in the high KCl concentration of the cytoplasm. High salt has become an absolute requirement, since halophilic proteins in general unfold at low salt.

We evaluated the solvation, stability and weak inter-particle interactions of malate dehydrogenase from *H. marismortui* (*hM* MalDH) in various salt solutions, in order to probe the role of the ions and water of the solvent. *hM* MalDH adapts to its environment: its global solvation depends strongly on the salt nature [Ebel et al. *Biochemistry* 2002]. Strong (detected by crystallography) and weak binding sites for solvent ions explain the effect of salt on protein stability and auto-association [Ebel et al. *Biochemistry* 1999, Irimia et al. *J. Mol. Biol.* 2003]. Attraction between proteins is observed when the composition of the solvation shell is different from the bulk, which can be understood by thermodynamic relationships. These studies explain the adaptation of halophilic proteins [Costenaro et al. *Biochemistry* 2002, Costenaro & Ebel *Acta Cryst D* 2002] and also their protocols of crystallization [Costenaro et al. *J Cryst Growth* 2001].

---

## NOTES

## Affiche 15

### CONSÉQUENCES MEMBRANAIRES DE L'ELECTROPERMÉABILISATION : MICRODOMAINES ET ALTÉRATION DE LA MOBILITÉ TRANSVERSE DES PHOSPHOLIPIDES.

C. Faurie, S. Sebaï, M. Golzio, J. Teissié et M.-P. Rols

Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale du CNRS (UMR 5089) 205, route de Narbonne 31077  
Toulouse cedex

L'application d'un champ électrique externe permet de moduler localement le potentiel transmembranaire, créant un nouvel état dans lequel la membrane devient transitoirement perméable. Il est alors possible d'introduire dans la cellule des molécules exogènes avec une grande efficacité tels les médicaments anti-tumoraux et l'ADN. Les mécanismes impliqués dans ce phénomène de perméabilisation demeurent cependant à élucider.

Le mode d'entrée des molécules dépend de leur taille. Le transfert de molécules de petite taille est soumis à leur simple diffusion dans les régions membranaires où le potentiel a atteint 200 mV. Nos travaux de visualisation au niveau de la cellule unique confirment que le transfert d'ADN est plus complexe et ne peut être expliqué par la simple injection électrophorétique à travers des pores lipidiques. Il comporte une étape clé d'interaction de l'ADN avec la membrane sous forme d'agrégats dans des *domaines membranaires localisés* pendant l'application des impulsions électriques, la présence d'ADN dans le cytoplasme n'étant observée qu'au bout de 10 min. Le *flip-flop*, c'est à dire le passage des phospholipides d'un feuillet de la membrane à l'autre, est fortement accéléré pendant les minutes qui suivent l'application des impulsions électriques. Nos travaux suggèrent une altération de l'asymétrie transverse de distribution des phospholipides membranaires comme conséquence de l'électroperméabilisation. Cette redistribution lipidique pourrait expliquer les phénomènes associés de vésiculation.

Golzio M., Teissie, J. et Rols, M.P. 2002. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 99 : 1292-7

Rols M.P., Femenia P. and Teissié J. 1995. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 208 : 26-35

---

## NOTES

## Affiche 16

### ETUDE STRUCTURALE DE LA SUCROSE-6-PHOSPHATE PHOSPHOHYDROLASE (SPP) DE SYNECHOCYSTIS SP. PCC6803

S. Fieulaine<sup>1</sup>, J. Lunn<sup>2</sup>, F. Borel<sup>1</sup> et J.-L. Ferrer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut de Biologie Structurale J.-P. Ebel (IBS), Laboratoire de Cristallographie et Cristallogenèse des Protéines (LCCP), CEA/CNRS/UJF, 41 rue Jules

<sup>2</sup>Max Planck Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie, Am Muhlenberg 1, 14476 Golm, Germany

L'enzyme sucrose-6-phosphate phosphohydrolase ou SPP catalyse l'étape finale de la voie de biosynthèse du sucrose. Elle permet de déphosphoryler le sucrose6P obtenu par l'addition d'une molécule d'UDP-glucose à une molécule de fructose6P, réaction catalysée par une sucrose-phosphate synthase ou SPS. Le sucrose étant le produit principal de la photosynthèse chez la plupart des plantes, l'enzyme SPP est considérée comme la dernière enzyme de la voie de l'assimilation du carbone par la photosynthèse. De manière surprenante, c'est la seule enzyme de cette voie de biosynthèse dont le gène n'avait pas été cloné et la protéine étudiée jusqu'à il y a peu. Nous nous intéressons à la protéine SPP de *Synechocystis* sp., qui est l'un des rares procaryotes à synthétiser du sucrose.

A l'heure actuelle, 4 structures ont pu être résolues: la 1<sup>ère</sup> par la technique SAD et un dérivé lourd erbium au sein du cristal, les 3 autres par remplacement moléculaire ou "rigid body" (codes PDB respectifs: 1S2O, 1TJ3, 1TJ4 et 1TJ5). La protéine SPP est composée de deux domaines, la crevasse située entre eux constitue le site actif. Les deux structures vides (1S2O et 1TJ3) montrent un mouvement des deux domaines qui se referment sur le site actif, correspondant à une conformation ouverte ou fermée. Les deux autres structures ont été obtenues à partir de cristaux de protéine en conformation fermée trempés dans une solution contenant du sucrose ou du sucrose6P (1TJ4 et 1TJ5). Les cartes de densité électronique montrent respectivement la présence de sucrose ou sucrose plus phosphate au sein du site actif.

L'ensemble de ces 4 structures devrait nous permettre de décrire le cycle catalytique de l'enzyme SPP.

---

## NOTES

## Affiche 17

### ÉTUDES CRYOENZYMOLOGIQUES DE LA 3-PHOPHGLYCÉRATE KINASE: CORRÉLATION ENTRE CINÉTIQUES TRANSITOIRES ET DONNÉES STRUCTURALES

A. Geerlof<sup>1</sup>, C. Lionne<sup>2</sup>, L. Chaloin<sup>2</sup>, F. Travers<sup>2</sup> et T. Barman<sup>2</sup>

<sup>1</sup>EMBL Heidelberg, Meyerhofstrasse 1, D-69117 Heidelberg, Allemagne

<sup>2</sup>UMR 5121, CNRS/Université Montpellier I, Institut de Biologie, 4 bd Henri IV (CS 89508), 34960 Montpellier Cedex 2, France

Un des moyens pour élaborer le chemin réactionnel d'une enzyme est d'examiner minutieusement les données structurales disponibles, en portant une attention particulière aux changements structuraux induits par les substrats, car ceux-ci peuvent conduire à des cinétiques mesurables et à l'existence d'intermédiaires particuliers. Ici, nous exploitons cette approche avec une enzyme glycolytique clé, la 3-phosphoglycérate kinase (PGK):

$ADP + 1,3\text{-biphosphoglycérate(bPG)} \leftrightarrow ATP + 3\text{-phosphoglycérate(PG)}$

La structure de la PGK a été étudiée en détail, mais son chemin réactionnel peu. Nous avons déjà proposé un schéma réactionnel [Geerlof *et al.* (1997) *Biochemistry* 36, 5538] que nous développons ici en étudiant la réaction en sens opposé au sens physiologique, c'est à dire avec ATP et PG comme substrats. D'après les études structurales, les sites de l'ATP et du PG sur la PGK sont trop éloignés pour permettre un transfert direct du phosphate. Aussi, nous testons le scénario suivant. Après la fixation de PG et ATP, il se produit un mouvement de charnière ("hinge bending motion") par lequel les substrats sont internalisés et rapprochés, et le site catalytique formé. A la suite du transfert du phosphate, le complexe ternaire PGK.bPG.ADP subit un changement de conformation subtil qui favorise le départ successif des produits: d'abord ADP, puis bPG.

Nous avons testé ce chemin par une étude fine des cinétiques transitoires en utilisant des techniques de mélanges rapides ("rapid-flow-quench"). Nous avons résolu les problèmes liés à la rapidité de réaction et aux équilibres défavorables par l'ajout de solvant organique (30% méthanol) et l'abaissement de la température, c'est la cryoenzymologie. Les données cinétiques concordent bien avec le schéma inspiré des structures et ont permis la détermination des constantes le décrivant.

Ce travail a été financé par l'INSERM.

---

## NOTES

## Affiche 18

### APPLICATION DE L'IMAGERIE SIMS À LA BIOLOGIE : QUELQUES PROBLÈMES LIÉS À LA RÉOLUTION EN MASSE ET À L'ÉMISSIVITÉ DES IONS SECONDAIRES.

J.-L. Guerquin-Kern, T.-D. Wu, C. Quintana et A. Croisy

Laboratoire de Microscopie Ionique, Institut Curie Recherche, Bât 112 Centre Universitaire 91405 Orsay Cedex.

La technique de microanalyse par émission d'ions secondaires (SIMS) permet l'analyse chimique locale avec séparation des isotopes. C'est une technique très répandue dans les domaines des Sciences des Matériaux et des Sciences de la Terre. En revanche, dans le domaine des Sciences du Vivant, elle est encore mal connue et peu utilisée, malgré les travaux réalisés depuis les années 70.

Le NanoSIMS-50, un appareil de la dernière génération de microsonde ionique récemment installé au laboratoire, est équipé avec un système de multidétection qui permet l'enregistrement simultané de la cartographie de 5 éléments avec une résolution spatiale inférieure à 100nm. Ainsi, il est possible d'étudier sur des échantillons biologiques la localisation, l'accumulation de biomolécules (protéines, lipides, acides nucléiques, hydrates de carbone) et le turnover des molécules marquées avec des isotopes stables ( $^2\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{129}\text{I}$ , ...) au niveau sub-cellulaire.

Cependant la composition hétérogène des échantillons biologiques pose des problèmes spécifiques. Lors de la détection des éléments à l'état de trace, la présence des interférences dues aux ions polyatomiques, composés des constituants majeurs de la matrice biologique (H, C, N, O), nécessite souvent l'utilisation d'un pouvoir de séparation en masse élevé. Il est donc important de définir correctement la notion de résolution en masse. Un autre problème concerne l'évolution au cours du temps du rendement d'émission de chaque ion. Ce problème affecte la fiabilité de l'analyse quantitative des marqueurs par rapport aux éléments constitutifs de l'échantillon.

A travers quelques exemples concrets, nous soulignerons l'importance de ces problèmes et leur impact dans l'analyse des traces de marqueurs dans les biomolécules. Des protocoles expérimentaux visant à minimiser l'influence de ces problèmes seront présentés.

---

## NOTES

## Affiche 19

### ETUDE DE LA DIMÉRISATION DES PEPTIDES NEU/ERBB-2 ET NEU\*/ERBB-2 DANS DES MODÈLES DE MEMBRANES

L. Khemtémourian, F. Aussenac, C. Sizun et E. J. Dufourc

Institut Européen de Chimie et Biologie, UMR CNRS 5144 MoBIOS, 2 rue Robert Escarpit, 33607 Pessac

Le récepteur à l'EGF est un dimère qui transmet au sein de la cellule les signaux de croissance cellulaire. Lorsqu'un ligand se lie sur la partie extracellulaire du peptide, celui-ci se dimérise propageant ainsi le signal. Le gène codant pour l'EGF-R devient oncogène lorsqu'une mutation ponctuelle Val<sup>(664)</sup>/Glu se produit dans la partie transmembranaire de la protéine Neu/erbB-2. Cette mutation stabiliserait les dimères en absence de ligand et conduirait au processus cancéreux. Le but de ces travaux est de comprendre et de déterminer les conditions de dimérisation.

La mutation ayant lieu dans la zone transmembranaire, seuls les fragments transmembranaires Neu<sub>TM35</sub> et Neu\*<sub>TM35</sub> (muté) sont étudiés.

La stratégie mise en place consiste à synthétiser ces fragments puis à entreprendre une étude structurale par dichroïsme circulaire (CD) et RMN en milieu membranaire.

Les mesures de CD réalisées en solution organique et en milieu micellaire montrent un spectre très proche de celui de l'hélice  $\alpha$  de référence. Les fragments conserveraient un seul et même état de structuration pour des concentrations de 20 à 2000  $\mu$ M. Les mesures effectuées avec des variations de température dans des bicelles (DMPC/DCPC) permettent de conclure à une transition d'une forme monomérique vers un état oligomérique pour le fragment Neu<sub>TM35</sub>. Ce phénomène d'association aurait lieu dans la membrane à partir de concentrations peptidiques de l'ordre de 600  $\mu$ M.

Nos résultats montrent donc que la bicouche, structure membranaire plane, doit favoriser la dimérisation ou l'oligomérisation du fragment peptidique, Neu<sub>TM35</sub>. Ces études sont complétées par de la RMN des solides des peptides dans les bicelles.

---

## NOTES

## Affiche 20

### OLIGOMERIC ASSEMBLIES OF ESCHERICHIA COLI MALT TRANSCRIPTIONAL ACTIVATOR REVEALED BY CRYO-ELECTRON MICROSCOPY AND IMAGE PROCESSING

É. Larquet<sup>1</sup>, V. Schreiber<sup>2</sup>, N. Boisset<sup>1</sup> et E. Richet<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de minéralogie Cristallographie de Paris, UMR7590 CNRS, Universités Paris 6 & 7, et IPGP, Case postale 115, 4 Place Jussieu, 75252 Paris

<sup>2</sup>Unité de Génétique Moléculaire, CNRS URA 2172, Département de Microbiologie Fondamentale et Médicale, Institut Pasteur, 25 rue du Dr. Roux 75724 Paris

MalT, a transcriptional activator dedicated to the maltose regulon from *Escherichia coli*, is the prototype for a new family of transcriptional activators of large size (~100 kDa). MalT self-association plays a key role in recognition of the target promoters which contain several MalT sites that are cooperatively bound by the activator. The unliganded form of MalT is monomeric. The protein self-associates only in the presence of both ATP (or AMP-PNP, a non-hydrolysable analog of ATP) and maltotriose, the inducer. Here, we report cryo-electron microscopy analyses of MalT multimeric forms. We show that, in the presence of maltotriose and AMP-PNP, MalT associates into original, polydisperse, curved homopolymers. The building block, corresponding to a MalT monomer, comprises an outer globular domain connected by a peduncle to an inner domain that mediates self-association. As highlighted by image analyses, these polymeric forms are characterised by a significant conformational flexibility. In the presence of a DNA fragment containing a MalT-controlled promoter, malPp500, MalT forms homopolymers with a much smaller radius of curvature and a different conformation. We propose that MalT binding to the target promoters involves the assembly of a MalT homooligomer that is governed by the array of MalT sites present.

---

## NOTES

## Affiche 21

### INSERTION DE MOLECULES HYDROSOLUBLES DANS DES MONOCOUCHEs LIPIDIQUES: ETAPES D'INSERTION, EFFETS DE SEUIL

M.-F. Lecompte<sup>1</sup>, R. Salvayre<sup>1</sup>, G. Laurent<sup>2</sup> et J. P. Jaffrezou<sup>3</sup>

<sup>1</sup>INSERM U466, CHU Rangueil, Toulouse

<sup>2</sup>Service d'hématologie, CHU Purpan, Toulouse

<sup>3</sup>INSERM E9910, Institut Claudius Regaud, Toulouse

En biologie, l'interface membrane/solution est le siège de nombreux échanges au niveau cellulaire. Les molécules hydrosolubles (protéines, drogues...) doivent s'y positionner sous la bonne orientation et/ou conformation, pour y fonctionner. C'est le cas dans les complexes membranaires impliqués dans la cascade d'activation des facteurs plasmatiques, qui mène à la formation du caillot sanguin. Nos méthodes, mises au point sur cet exemple, s'appliquent ici à l'athérosclérose et au cancer.

Pour distinguer les modes d'interaction (adsorption, insertion...) de ces molécules avec une membrane modèle, nous utilisons une approche dérivée de la polarographie, avec signal sinusoïdal surimposé, mise au point sur monocouches phospholipidiques condensées, dont nous recherchons de nouvelles potentialités. C'est ainsi qu'il nous est possible à l'heure actuelle de caractériser l'état de la couche (stabilité...). Etant donné que nous utilisons des modèles membranaires, nous avons au préalable testé leur validité sur la fonctionnalité d'un des systèmes biologiques étudiés. L'insertion des molécules, qui se fait à un seuil de leur concentration en surface, dépend de la composition lipidique. Du fait de l'existence d'un effet de seuil, la formation du complexe membranaire n'est pas régie par le seul phénomène de diffusion. Les effets du cholestérol dans le cas de l'apo A-I, et de la sphingomyéline dans le cas de la daunorubicine, ont été suivis sur des monocouches contenant de la phosphatidylcholine. La voltammétrie utilisée en parallèle permet de quantifier les molécules confinées dans la couche.

---

## NOTES



## Affiche 22

### DÉVELOPPEMENT DE NOUVELLES SONDAS FLUORESCENTES POUR LA DÉTECTION DU RADICAL HYDROXYLE

G. Louit<sup>1</sup>, F. Taran<sup>2</sup>, G. Baldacchino<sup>1</sup>, H. Coffigny<sup>3</sup>, J.-P. Renault<sup>1</sup> et S. Pin<sup>3</sup>

<sup>1</sup>CEA/Saclay, DSM/DRECAM/SCM/URA 331 CNRS 91191-Gif sur Yvette Cedex

<sup>2</sup>CEA/Saclay, DSV/DBJC/SMMCB, 91191-Gif sur Yvette Cedex

<sup>3</sup>CEA/Fontenay aux Roses, DSV/DRR/SEGG 92265-Fontenay aux Roses Cedex

Le radical hydroxyle (HO<sup>•</sup>) est une des espèces les plus réactives connues à ce jour, et constitue un des acteurs principaux du stress oxydant. Le radical hydroxyle est également un des produits majoritaires de la radiolyse de l'eau en milieu aqueux et intervient donc dans les lésions causées par les rayonnements ionisants au sein des systèmes biologiques.

Dans le cadre de sa thèse, G. Louit développe des recherches sur des sondes profluorescentes du radical hydroxyle : il s'agit de molécules peu fluorescentes qui réagissent avec HO<sup>•</sup> pour former un composé fortement fluorescent. Une bonne sonde doit être sélective du radical hydroxyle et réagir rapidement avec ce dernier afin de donner une bonne sensibilité mais elle doit également être chimiquement stable pour être utilisable dans les milieux complexes tels que les systèmes biochimiques.

Nous présentons les résultats obtenus sur la coumarine comme sonde du radical hydroxyle. La coumarine est connue pour réagir avec HO<sup>•</sup> en milieu aqueux pour former la 7-hydroxycoumarine qui donne un signal en fluorescence proche de 456nm. Nous avons pu identifier et quantifier par chromatographie HPLC un grand nombre des produits issus de la réaction de la coumarine avec le radical hydroxyle. Par ailleurs, nous avons synthétisé et évalué la sensibilité de dérivés de la coumarine en tant que sondes fluorescentes. Parmi ces sondes, celles possédant des groupes donneurs d'électrons ont donné la meilleure sensibilité, permettant de détecter une concentration en radicaux inférieure à 30nmol.dm<sup>-3</sup>.

Afin de mieux comprendre la réactivité de la coumarine et de ses dérivés vis-à-vis du radical hydroxyle, nous avons mesuré leur constante de réaction avec HO<sup>•</sup> par des expériences de radiolyse pulsée nanoseconde et corrélié ces expériences à des calculs de chimie quantique.

---

## NOTES

## Affiche 23

### LE PAYSAGE CONFORMATIONNEL DE LA PROTÉINE RIBOSOMIQUE S15

T. E. Malliavin, T. Créty et A. Mazur

Laboratoire de Biochimie Théorique, IBPC, 15, rue P. et M. Curie, F-75 005 Paris

Les structures de la protéine ribosomique S15, déterminées par RMN (Berglund et coll., 1997) et par cristallographie aux rayons X (Clemons et coll., 1998) montrent une orientation différente de la première hélice  $\alpha$  par rapport au reste de la protéine. Par ailleurs, une analyse des conformères RMN de S15 par PROCHECK met en évidence des distortions, qui peuvent être dues à des incompatibilités entre les contraintes NOE, produites par un échange conformationnel.

Nous avons analysé le paysage conformationnel de la protéine, de différents points de vue. Tout d'abord, un recuit simulé sous contraintes NOE a été effectué dans l'espace des coordonnées internes, à l'aide de la méthode ICMD (Mazur, 1999). Des trajectoires de dynamique moléculaire, qui avaient pour point de départ, soit un des conformères de la structure RMN, soit un conformère généré à l'aide de ICMD, ont été simulées. Ces analyses ont montré que: (a) différentes orientations de l'hélice 1 par rapport au reste de la protéine sont obtenues suivant le protocole de recuit simulé, (b) le comportement de la protéine durant les trajectoire, et en particulier sa dérive par rapport au point de départ, dépend de la méthodologie utilisée pour calculer les conformations initiales.

Références:

Berglund H., Rak A., Serganov A., Garber M. and Hard T. (1997) Nat Struct. Biol. 4, 20-23.

Clemons WM Jr, Davies C, White SW, Ramakrishnan V. (1998) Structure 6, 429-438.

Mazur AK (1999) J. Chem. Phys. 111, 1407-1414.

---

## NOTES

## Affiche 24

### NOUVEAUX DÉVELOPPEMENTS DU MODÈLE MULTI-PHARMACOPHORIQUE DE LA P-GLYCOPROTÉINE, LE TRANSPORTEUR ABC-B1 DE LA RÉSISTANCE MULTIDROGUE

S. Martin<sup>1</sup>, N. Loiseau<sup>2</sup>, J.-M. Gomis<sup>3</sup>, M. Delaforge<sup>4</sup>, F. André<sup>4</sup> et S. Orłowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Service de Biophysique des Fonctions Membranaires, DBJC, CEA Saclay, 91191 Gif/Yvette cedex

<sup>2</sup>Laboratoire de Pharmaco-Toxicologie, UR66 INRA, 31931 Toulouse cedex9

<sup>3</sup>Service des Molécules Marquées et Chimie Bioorganique, DBJC, CEA Saclay, 91191 Gif/Yvette cedex

<sup>4</sup>Service de Bioénergétique, DBJC, CEA Saclay, 91191 Gif/Yvette cedex

La P-glycoprotéine (P-gp) est un transporteur membranaire actif responsable de la résistance multidrogue de certaines tumeurs. Elle a un rôle physiologique général de détoxification cellulaire contre différentes agressions chimiques. Elle est impliquée dans les phénomènes d'absorption/distribution/élimination de nombreuses molécules d'intérêt pharmaceutique. La capacité de la P-gp à reconnaître des substrats ayant une grande diversité de structures chimiques est importante à comprendre au niveau moléculaire.

L'association de l'analyse enzymologique des modulations d'activité ATPasique de la P-gp induites par des ligands avec la modélisation moléculaire des motifs hydrophiles et hydrophobes de ces ligands montre que ces motifs sont déterminants dans la reconnaissance par la P-gp. Les ligands de la P-gp se répartissent en différentes "classes de compétition", dans lesquelles ils sont mutuellement exclusifs et présentent des motifs superposables dans l'espace, indiquant fortement un même site de liaison sur la P-gp. Les ligands testés ont ainsi défini trois pharmacophores distincts, reconnaissant respectivement vérapamil, vinblastine et Hoechst 33342. Lorsque deux gros ligands (PM>700 env.) sont liés à deux pharmacophores distincts, ils peuvent être compétitifs entre eux par gêne stérique, montrant leurs relations de proximité. L'étude de la daunorubicine montre qu'elle s'adapte à deux pharmacophores distincts, avec des affinités différentes. Ces nouveaux résultats confirment et étendent le modèle multipharmacophorique de la P-gp précédemment décrit [*Mol. Pharmacol.* 62, 1288 (2002)], et expliquent ses propriétés de reconnaissance multispécifique pour de nombreuses drogues.

---

## NOTES

## Affiche 25

### CARACTÉRISATION DES CAVITÉS ET DES CHEMINS DE PASSAGE DES LIGANDS DANS L'HÉMOGLOBINE HUMAINE

L. Mouawad<sup>1</sup>, J.-D. Maréchal<sup>2</sup> et D. Perahia<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institut Curie, Unité de Biophysique Moléculaire, Orsay

<sup>2</sup>University of Leicester, UK

<sup>3</sup>Institut de Biophysique et Biochimie Moléculaire et Cellulaire, Orsay

Au cours d'une étude de dynamique moléculaire de l'hémoglobine (Hb), nous avons observé la formation spontanée d'une cavité de très grande taille du côté distal de l'hème d'une des sous-unités de la protéine (chaîne  $\alpha$ ). Cette chaîne a une structure similaire à celle de la myoglobine dans laquelle 3 sites de résidence du Xe ont été caractérisés dans les années 1980 du côté distal de l'hème. La cavité observée dans la sous-unité  $\alpha$  de l'Hb engloberait ces 3 sites ; elle est constituée de 3 « tunnels » qui mènent de l'extérieur de la sous-unité vers l'hème et plus précisément au-dessus de l'atome de fer, ce qui pourrait indiquer des chemins possibles pour l'entrée du ligand ( $O_2$ , CO, NO) en vue de sa fixation sur le fer.

Les trajectoires de dynamique moléculaire, qui ont été calculées pour l'Hb dans le solvant, ont montré que quelques unes des molécules d'eau initialement à l'intérieur de la protéine arrivent à sortir durant la dynamique et empruntent effectivement un de ces tunnels, sauf une qui suit un chemin différent montrant un quatrième passage possible. L'équivalent de ce passage pour les chaînes  $\beta$  a été emprunté par plusieurs molécules d'eau de la boîte leur permettant ainsi de s'approcher de l'atome de fer.

---

## NOTES

## Affiche 26

### ANALYSE PAR DICHROISME CIRCULAIRE DU RECEPTEUR MU OPIOÏDE SOLUBILISÉ DANS DES DETERGENTS

I. Muller, V. Sarramegna, M. Renault, V. Lafaquière, A. Milon et F. Talmont

IPBS-CNRS, 205 route de Narbonne 31077 toulouse

Le récepteur Mu aux opioïdes est le récepteur de la douleur dont un des ligands agonistes est la morphine. La compréhension au niveau structural de l'interaction entre ce récepteur et ses ligands est envisageable à condition d'obtenir des quantités importantes de récepteurs purifiés (plusieurs mg). C'est dans cette optique que nous avons développé toute une étude concernant l'utilisation de la levure méthylotrrophe *Pichia pastoris* comme système d'expression.

Nous sommes désormais en mesure de produire et de purifier plusieurs mg de récepteur en routine. Après solubilisation du récepteur dans des détergents, nous avons montré, par dichroïsme circulaire, qu'il adoptait une conformation en hélice  $\alpha$  dont le pourcentage est équivalent à celui déterminé pour la rhodopsine.

Talmont, F., Sidobre, S., Demange, P., Milon, A., Emorine, L.J. (1996) *FEBS Lett.*, **394**, 268-272.

Massou, S., Puech, V., Talmont, F., Demange, P., Lindley, N.D., Tropis, M., and Milon, A. (1999) *J. Biomol. NMR*, **14**, 231-239.

Sarramegna V., Demange, P., Milon A. and Talmont, F., (2002) *Protein Expr. Pur.*, **24**, 212-220.

Sarramegna V., Talmont, F., Milon A. and Demange, P., (2002) *J. Biotechnology*, **99**, 23-39.

Sarramegna V., Talmont F., Demange P., and Milon A. (2003) *Cellular and Molecular Life Sciences*, **60**, 1-18.

---

## NOTES

## Affiche 27

### VECTORISATION D'ADN PAR DES LIPOSOMES CATIONIQUES : CARACTÉRISATION DES COMPLEXES

A. Percot<sup>1</sup>, S. Lecomte<sup>1</sup>, M.-H. Baron<sup>1</sup>, A. Cao<sup>2</sup> et R. Coudert<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Equipe "Interactions dans les Systèmes d'Intérêt Biologique" Laboratoire de Dynamique, Interactions et Réactivité CNRS/UNIV. Paris-6, UMR 7075

<sup>2</sup>Laboratoire de Chimie Structurale et Spectroscopie Biomoléculaire CNRS/UNIV. Paris-13, UMR 7033

<sup>3</sup>Laboratoire de Physicochimie des Interfaces et des Milieux Réactionnels (PIMIR) UNIV. Tours, EA 2098

De nombreuses stratégies ont été développées afin d'optimiser la vectorisation d'acides nucléiques exogènes. Dans le cadre de la thérapie génique, les liposomes apparaissent comme des vecteurs non viraux prometteurs. Ces complexes lipide/acide nucléique transportent l'ADN et facilitent son passage à travers les différentes barrières cellulaires rencontrées.

Au cours de ce travail, nous avons utilisé un nouveau lipide cationique à base de cholestérol<sup>1</sup>. Ce lipide, mélangé en proportions équimolaires à de la DOPE a été utilisé pour transporter le gène de la  $\beta$ -galactosidase dans des cellules de mélanome B16-F10. Deux paramètres sont étudiés afin d'augmenter l'efficacité de la transfection : le rapport de charges et le conditionnement. La lyophilisation des liposomes et des complexes a permis une augmentation de l'efficacité de la transfection (5 fois). La microscopie électronique a été utilisée et a permis de mettre en évidence la présence de sous-structures liposomales, même après lyophilisation.

A l'échelle moléculaire, les liposomes lyophilisés ou non ont été étudiés par RMN. Un changement d'organisation des lipides a été observé suite à la lyophilisation. D'autre part, une méthode de détection d'acides nucléiques par spectrométrie Raman exaltée de surface est mise au point pour localiser l'ADN au sein du liposome (interne/externe). Cette méthode permet de détecter des nanomoles d'oligonucléotides tout en reflétant leur accessibilité. Dans un premier temps, l'adénine libre et encapsulée dans des liposomes est utilisée comme sonde modèle.

<sup>1</sup>Percot A., Briane D., Coudert R., Reynier P., Bouchemal N., Lièvre N., Hantz E., Salzmann J.L., Cao A. *Inter. J. Pharma.* 2004 (sous presse)

---

## NOTES

## Affiche 28

### DISCRIMINATION DES LESIONS CUTANÉES BENIGNE ET MALIGNES (NAEVUS ET MELANOME) PAR MICROSPECTROSCOPIE VIBRATIONNELLE

O. Piot<sup>1</sup>, A. Tfayli<sup>1</sup>, P. Bernard<sup>2</sup> et M. Manfait<sup>1</sup>

<sup>1</sup>MéDIAN CNRS 6142, UFR Pharmacie, Université de Reims Champagne Ardenne, 51 rue Cognacq Jay, 51096 Reims Cedex. michel.manfai@univ-reims.fr

<sup>2</sup>Service de Dermatologie, CHU de REIMS, rue du Général Koenig, 51100 Reims

Des travaux actuels rapportent les potentialités des microspectroscopies infrarouge et Raman pour caractériser les tissus biologiques et en particulier la peau. Le traitement statistique des spectres permet, de plus, de discriminer un tissu sain d'un tissu tumoral. Parmi les organes examinés, la peau constitue un terrain d'investigation intéressant de par la diversité des lésions, bénignes (naevus) et plus ou moins malignes (carcinomes, mélanomes) qu'il est crucial de pouvoir identifier correctement. En effet, le mélanome constitue un des cancers les plus dangereux, particulièrement chez les jeunes adultes, mais qui reste sans complication lorsqu'il est diagnostiqué à temps. Ne pas méconnaître un mélanome en le confondant avec un naevus est le point clé de ce diagnostic. Notre objectif est de montrer le potentiel des spectroscopies vibrationnelles comme outils d'aide au diagnostic précoce des lésions cutanées.

Les analyses infrarouge et Raman ont été réalisées à partir de biopsies de naevus et de mélanome, incluses dans la paraffine. Bien que la paraffine possède des raies de vibration de forte intensité, il est possible de sélectionner des régions spectrales sur lesquelles des classifications peuvent être réalisées. Des images spectrales ont d'abord été enregistrées afin de localiser les différentes couches de la peau (épiderme et derme). A partir de ces images, des spectres ont été extraits afin de réaliser des classifications, permettant de discriminer les lésions bénignes (naevus) des mélanomes.

La suite des travaux s'oriente vers le développement de nouveaux spectroscopes, dédiés au clinicien dermatologue, permettant de réaliser des analyses intra-vitales.

---

## NOTES

## Affiche 29

### DIFFÉRENTES STRUCTURES BÉTA DE LA PROTÉINE PRP OVINE INDUITES À L'INTERFACE LIQUIDE/SOLIDE.

M. Revault<sup>1</sup>, H. Rezaei<sup>2</sup>, M.-H. Baron<sup>1</sup>, H. Quiquampoix<sup>3</sup>, J. Grosclaude<sup>2</sup> et S. Noinville<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Dynamique, Interactions et Réactivité, CNRS-Université Paris VI, Thiais.

<sup>2</sup>Laboratoire de Virologie et Immunologie Moléculaires, INRA, Jouy-en-Josas.

<sup>3</sup>Rhizosphère et Symbiose, INRA-ENSAM, Montpellier.

De manière générale, l'adsorption de protéines à l'interface solide/liquide a pour conséquence immédiate un changement de structure, qui peut altérer leurs fonctions. Le rôle de l'adsorption du prion sur les surfaces minérales dans les risques environnementaux peut être difficile à évaluer. Il n'en est pas moins certain que les prions libérés dans l'environnement ont de très fortes chances de se trouver en quasi-totalité à l'état adsorbé.

Notre étude est basée sur la protéine recombinante PrP du mouton, capable de mimer in vitro les changements conformationnels de la protéine pathologique. La structure secondaire adoptée par la PrP à l'état adsorbé est un paramètre très pertinent pour estimer les modifications du caractère infectieux du prion dans la mesure où le prion normal, PrP<sup>c</sup>, est riche en hélices- $\alpha$ , alors que la forme infectieuse est riche en feuillettes- $\beta$ . La spectroscopie infrarouge est la méthode la mieux adaptée pour observer ce type de changement conformationnel sur des systèmes hétérogènes protéines-argiles. La corrélation des échanges isotopiques avec les changements de structures secondaires sera également comparée entre l'état de la PrP en solution et celui de la PrP immobilisée sur une surface d'argile modèle par spectroscopie FTIR-2D.

---

## NOTES



## Affiche 30

### ORGANISATION DYNAMIQUE DU RÉCEPTEUR HMOP À LA SURFACE DE NEUROBLASTOMES.

A. Sauliere, G. Gaibelet, C. Millot, S. Mazeres, A. Lopez, L. Salome et L. Cézanne

IPBS/CNRS, 205 route de Narbonne, 31062, TOULOUSE cedex, France.

Le récepteur mu aux opioïdes humains (hMOP) appartient à la famille des Récepteurs Couplés aux Protéines G (RCPG) et régule différents effets des opioïdes tels l'euphorie ou la perception de la douleur. Afin de mieux comprendre les mécanismes qui entrent en jeu lors des étapes membranaires de la transduction du signal, nous cherchons à établir des corrélations entre la pharmacologie de ce RCPG, son organisation dynamique dans la membrane plasmique de cellules (Daumas et al. 2003) et ce, en relation avec les contraintes de l'environnement membranaire (Lagane et al. 2000). Ainsi se pose la question de la présence ou non du récepteur dans des domaines de type "rafts", décrits comme des plate-formes de signalisation, en fonction de son activation par différents ligands. La lignée cellulaire de neuroblastomes humains SHSY-5Y exprimant de manière endogène hMOP a été choisie pour l'étude du récepteur. Une protéine de fusion T7-EGFP-hMOP a été construite et exprimée de manière stable dans cette lignée. Il a été vérifié en microscopie que le récepteur fluorescent est correctement exprimé à la membrane et que les propriétés pharmacologiques de hMOP (liaison de la diprénorphine et du DAMGO, inhibition de l'adénylate cyclase) sont conservées. Dans un souci de relier ces caractéristiques pharmacologiques aux contraintes de l'environnement membranaire, les compositions lipidiques (rapport cholestérol/phospholipides, nature des têtes polaires et longueurs des chaînes d'acides gras des lipides) des lignées transfectée et sauvage, ont également été analysées. Sur cette lignée stable, des expériences de FRAP<sub>rv</sub> (Salomé et al. 1998, Cézanne et al. soumis) ont été entreprises et les premiers résultats seront discutés.

---

## NOTES

## Affiche 31

### MIGRATION DU LIGAND ET RELAXATION DE LA PROTÉINE DANS LA DYNAMIQUE DE RECOMBINAISON DE CO AVEC LE CYTOCHROME P450CAM

C. Tetreau, L. Mouawad et D. Lavalette

Biophysique Moléculaire INSERM-Institut Curie. Centre Universitaire 91405-Orsay.

Des travaux récents de cristallographie, photolyse laser et dynamique moléculaire ont montré que des cavités hydrophobes jouent un rôle fonctionnel dans la migration des ligands vers le site actif de la **Myoglobine**. Lorsque l'accès du ligand à ces cavités est interdit par la fixation sélective d'un atome de **Xénon**, les processus de recombinaison retardée par la migration disparaissent.

Nous avons analysé les cinétiques de recombinaison de CO avec le cytochrome **P450<sub>cam</sub>** entre 300 et 77 K après photodissociation en présence de **pressions variables de Xénon**. Vers 200 K la recombinaison comporte jusqu'à quatre processus géminés différents : i) recombinaison directe avec le site actif dans sa conformation "ligandée" initiale ; ii) recombinaisons survenant après relaxation du site actif vers une conformation "déliquée" dans laquelle le substrat (camphre) s'est rapproché du centre de l'hème ; iii) recombinaisons ralenties par la migration du ligand vers deux cavités différentes de la protéine. Seul l'emploi simultané de la méthode du Maximum d'Entropie et de la compétition avec le Xénon a rendu possible l'élucidation de cinétiques aussi complexes.

Dans le cytochrome P450, migration du ligand et relaxation conformationnelle du site actif sont mutuellement indépendantes. Ces deux processus sont purement internes : ils ne sont pas asservis aux fluctuations du solvant et se produisent déjà en dessous de la température de vitrification.

Ainsi, les processus de migration semblent généraux à toutes les protéines, mais la relaxation protéine/substrat constitue une complexité additionnelle spécifique aux protéines à fonction enzymatique en présence de leur substrat.

---

## NOTES

## Affiche 32

### EXPERIMENTAL APPROACHES TO STUDY THE DYNAMICS OF CHOLINESTERASES

M. Weik<sup>1</sup>, J. Colletier<sup>1</sup>, A. Royant<sup>2</sup>, F. Gabel<sup>1</sup>, X. Vernede<sup>2</sup>, G. Zaccai<sup>1</sup> et D. Bourgeois<sup>2</sup>

<sup>1</sup>LBM, Institut de Biologie Structurale, Grenoble, France

<sup>2</sup>LCCP, Institut de Biologie Structurale, Grenoble, France

Cholinesterases (ChEs) hydrolyse the neurotransmitter acetylcholine very rapidly, as required by the biological function of e.g. acetylcholinesterase (AChE), which is termination of impulse transmission at cholinergic synapses. AChE displays a buried active site, accessed by a deep and narrow gorge (Sussman *et al.* (1991) *Science* 253, 872). It is obvious that substantial 'breathing' motions of the protein are required for penetration of substrates to the active site *via* the gorge, and clearance of products *via* as yet undetermined routes. We have selected a repertoire of biophysical techniques to approach dynamical aspects associated with the function of ChEs: temperature-controlled (kinetic) X-ray crystallography, cryophotolysis of 'caged' compounds (Specht *et al.* (2001) *ChemBiochem* 2, 845), temperature-derivative fluorescence microspectrophotometry (TDFM) and elastic incoherent neutron scattering.

Neutron spectroscopy of butyrylcholinesterase (BChE) revealed a dynamical transition at ~ 220 K of global enzyme dynamics (Gabel *et al.* (2004) *Biophys. J.* 86, 3152). TDFM on the other hand, probes dynamical changes locally and showed a transition in the active site of BChE at 175 K (Weik *et al.* (2004) *Biophys. J.* 86, 3176). The ensemble of dynamical information thus gathered provides the groundwork for defining cryo-temperature profiles which may permit trapping and structural characterization of catalytic intermediate states, using a combination of caged compounds and kinetic X-ray crystallography. Conventional X-ray crystallography, employed in parallel, provided static pictures of substrate binding sites in AChE (Colletier *et al.*, unpublished results).

---

## NOTES

## Affiche 33

### BASES MOLECULAIRES DE LA FONCTION DES CENTRINES HUMAINES

A. Yang, S. Miron, P. Duchambon, Y. Blouquit, C. Firanescu et C. T. Craescu

INSERM/Institut Curie - Recherche, Centre Universitaire Paris-Sud, Bâtiments 110-112, 91405 Orsay cedex

Les centrines sont des protéines liant le  $\text{Ca}^{2+}$  appartenant à la super-famille de la calmoduline. L'analyse de leur séquence (environ 170 résidus) montre une haute conservation dans tous les eucaryotes et prédit deux domaines globulaires, chacun contenant deux motifs «EF-hand» pour la liaison du métal. La fonction la mieux caractérisée est le contrôle de la duplication des centrioles pendant la mitose.

Chez l'homme il y a quatre isoformes de centrine avec des localisations, expressions, séquences et fonctions différentes. Notre laboratoire est engagé dans un projet à long terme, dédié à l'étude des bases moléculaires et structurales de la spécificité fonctionnelle de ces isoformes. Cette communication présente une analyse détaillée de la centrine humaine 2 (HsCen2) et de ces domaines, par des méthodes biophysiques (RMN, CD, fluorescence, calorimétrie). Parmi les quatre sites potentiels de liaison du  $\text{Ca}^{2+}$ , seulement un site (IV) a une affinité significative et sélective pour le  $\text{Ca}^{2+}$ . En raison de la flexibilité interne et de la tendance à oligomériser de la protéine intégrale, les études structurales RMN ont été faites d'abord sur les domaines isolés. Nous avons ainsi caractérisé les propriétés structurales des domaines N-terminal (N-HsCen2) et C-terminal (C-HsCen2) en relation avec la liaison du  $\text{Ca}^{2+}$ . L'intégration de ces données a permis la modélisation de la protéine intégrale. L'analyse calorimétrique démontre que le domaine C-terminal est essentiellement responsable de la liaison de différents peptides cible. La structure en solution d'un complexe du C-HsCen2 avec un peptide issu de la protéine XPC révèle les détails moléculaires de l'interaction.

---

## NOTES

## Affiche 34

### DYNAMICS OF ASPARTATE TRANSCARBAMYLASE IN T AND R FORMS

J.-M. Zanotti<sup>1</sup>, M.-C. Bellissent-Funel<sup>1</sup> et G. Hervé<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire Léon Brillouin (CEA-CNRS), CEA-Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette Cedex (France).

<sup>2</sup>Laboratoire de Biochimie des Signaux Régulateurs Cellulaires et Moléculaires, Université Pierre et Marie Curie, 96, Boulevard Raspail, 75006 Paris (Fr

In the field of biomolecular regulation, *E. coli* aspartate transcarbamylase (ATCase) is an interesting molecular machinery. This 310 kDa enzyme, whose structure is reversibly and co-operatively modified by the presence of its substrates catalyses the first committed step in pyrimidine biosynthesis. The enzymatic activity of ATCase is modulated by large structural changes from a conformation with a low affinity for aspartate (T state) to a conformation with a high affinity for this substance (R state). As a consequence of this structural modification, the radius of gyration of protein, as measured by small angle X-ray scattering increases by 5%. *Is enzymatic activity modulated by internal dynamics?* Inelastic neutron scattering can help to answer the question. Owing to the large incoherent neutron scattering cross-section of the hydrogen atom and the abundance of this element in proteins, inelastic neutron scattering experiments give a global view of protein dynamics as sensed via the individual motions of its hydrogen atoms. We present incoherent inelastic and quasi-elastic neutron scattering results of the local dynamics (few angstroms), at short time (few picoseconds), of ATCase in T and R conformations and discuss the implication of these results in the field of signal transmission within enzymes 3D structure. An observed increase of mobility of the external region of the protein in the R form suggests some interesting correlation between molecular dynamics and physiology.

---

## NOTES

## **INDEX PAR AUTEUR**

ABRAINI Jacques 39  
 ACHARD Marie-France 23  
 ADAM Virgile 71  
 ADT Isabelle 72  
 ALBERTI Patrizia 46  
 ALLAIN Jean-Marc 24  
 AMHARREF Nadia 73  
 ANDRÉ François 94  
 ANGIBOUST Jean-François 79  
 ARAMAYO Ricardo 61  
 AUSSENAC Fabien 89  
 AZUARA Cyril 74  
 BALDACCHINO Gérard 75, 92  
 BALNY Claude 11  
 BANDERALI Umberto 56  
 BARMAN Tom 87  
 BARON Marie-Hélène 97, 99  
 BATAILLE Céline 75  
 BATS Cécile 33  
 BELJEBBAR Abdelilah 73  
 BELLISSENT-FUNEL Marie-Claire 104  
 BELLON-FONTAINE Marie-Noelle 36  
 BELOEIL Jean-Claude 67  
 BEN AMAR Martine 24  
 BERCIAUD Stéphane 80  
 BERNAD Sophie 76  
 BERNARD Philippe 98  
 BESSUEILLE François 17  
 BLAB Gerhard 80  
 BLOUQUIT Yves 103  
 BOISSET Nicolas 61, 81, 90  
 BONNIN Alain 72  
 BOREL Franck 86  
 BOURGEOIS Dominique 63, 71, 102  
 BOUTER A. 77  
 BOUYER Philippe 78  
 BREUZARD Gilles 79  
 BRIANDET Romain 36  
 BRON Patrick 61  
 BUREAU Michel Francis 16  
 BUSONI Lorenzo 28  
 CALVEZ Estelle 42  
 CAMPROUX Anne-Claude 40  
 CAO An 97  
 CAPPELLO Giovanni 28  
 CARLIER Marie-France 27  
 CÉZANNE Laurence 35, 100  
 CHABBERT Marie 83  
 CHAFFOTTE Alain 62  
 CHALOIN Laurent 87  
 CHOMILIER Jacques 41  
 CHOQUET Daniel 33, 80  
 COFFIGNY Hervé 92  
 COGNET Laurent 33, 80  
 COLIN Y. 82  
 COLLETIER Jacques 102  
 COPPO Michèle 75  
 COSSON Richard 75  
 COSTENARO Lionel 84  
 COTTEVIEILLE Magali 81  
 COUDERT Robert 97  
 CRAESCU Constantin T. 103  
 CRÉTY Thomas 93  
 CRIBIER Sophie 21  
 CROISY Alain 88  
 DALLE Frédéric 72  
 DE BREVERN A.g. 82  
 DE CIAN Anne 46  
 DELAFORGE Marcel 94  
 DELARUE Marc 58, 74  
 DEVILLE Julie 83  
 DORNIER Aurélie 28  
 DUCHAMBON Patricia 103  
 DUFOURC Erick J. 23, 89  
 DUKIC Sylvain 73  
 DURIN Guillaume 63  
 EBEL Christine 84  
 EBRIGHT Richard 47  
 ERRACHID Abdelhamid 17  
 ESSENDOUBI Mohammed 18  
 ETCHEBEST C. 82  
 ETCHEBEST Catherine 57  
 FAURIE Cécile 85  
 FERRER Jean-Luc 86  
 FIEULAINE Sonia 86  
 FIRANESCU Claudia 103  
 FONTAINE-AUPART Marie-Pierre 36  
 FOURMY Dominique 78  
 GABEL Frank 102  
 GAIBELET Gérald 100  
 GALZI Jean-Luc 35  
 GARNEAU Line 56  
 GAUTIER Romain 40  
 GEERLOF Arie 87  
 GINESTE Stéphane 23  
 GOLZIO Muriel 85  
 GOMEZ Dennis 46  
 GOMILA Gabriel 17  
 GOMIS Jean-Marie 94  
 GOROJANKINA Tatiana 17  
 GOUBARD Fabrice 62  
 GROC Laurent 33  
 GROSCLAUDE Jeanne 99  
 GUERQUIN-KERN Jean-Luc 88  
 GUIGOU Ludovic 81  
 GUITTAT Lionel 46  
 HABERKORN Christophe 42  
 HEINE Martin 33  
 HELALI Salwa 17  
 HERVÉ Guy 104  
 HEYES Derren 63  
 HOCHREIN Marion 34  
 HOU Yanxia 17  
 IRIMIA Adriana 84  
 JACOLY Laurent 36  
 JAFFREZIC-RENAULT Nicole 17  
 JAFFREZOU Jean Pierre 91  
 JARAMILLO Alfonso 42  
 JOANNY Jean-Francois 24  
 JOLIBOIS Franck 22  
 KAPANIDIS Achillefs 47  
 KHEMTÉMOURIAN Lucie 89  
 KLEIN Hélène 56  
 KOHLER Achim 72  
 LACROIX Laurent 46  
 LACROIX Pascaline 36  
 LAFAQUIÈRE Vincent 96  
 LAGANE Bernard 35  
 LAPRÉVOTE Olivier 30  
 LARQUET Éric 81, 90  
 LAUNAY Guillaume 42  
 LAURENT Guy 91  
 LAVALETTE Daniel 101  
 LE TILLY Véronique 77  
 LE VAN KIM C. 82  
 LECAT Sandra 35  
 LECOMPTE Marie-France 91  
 LECOMTE Sophie 76, 97

LEE Nam-Ki 47  
LETELLIER Lucienne 34  
LÉVY Daniel 81  
LIONNE Corinne 87  
LOISEAU Nicolas 94  
LOPES Anne 41  
LOPEZ André 35, 100  
LOUDET Cécile 23  
LOUIT Guillaume 92  
LOUNIS Brahim 80  
LUNN John 86  
LUONIS Brahim 33  
MADERN Dominique 84  
MAILLIET Patrick 46  
MALLIAVIN Thérèse E. 93  
MANFAIT Michel 18, 72, 73, 79, 98  
MANGENOT Stéphanie 34  
MARÉCHAL Jean-Didier 95  
MARGEAT Emmanuel 47  
MARTIN Solenne 94  
MATTHES H 35  
MAURIZOT Jean Claude 30  
MAUROY Chloe 78  
MAZERES Serge 100  
MAZUR Alexey 93  
MEISTER Jean-Jacques 29  
MERGNY Jean-Louis 46  
MÉRIGOUX Cécile 61  
MILLOT Claire 35, 100  
MILLOT Jean-Marc 79  
MILON Alain 22, 96  
MINIC Jasmina 17  
MIRANDE Marc 81  
MIRON Simona 30, 103  
MOLINA-HEREDIA Fernando P. 71  
MOUAWAD Liliane 95, 101  
MULLER Isabelle 96  
NIVIÈRE Vincent 71  
NOINVILLE Sylvie 76, 99  
NOIREL Josselin 42  
ORLAND Henri 74  
ORLOWSKI Stéphane 94  
PAJOT-AUGY Edith 17  
PAPANDREOU Nikolaos 41  
PATEL Salima 62  
PAUTHE Emmanuel 62  
PERAHIA David 95  
PERCOT Aline 97  
PÉREZ Javier 61  
PERSUY Marie-Annick 17  
PFISTER Claude 51  
PICOT Daniel 55  
PIN Serge 75, 92  
PINCET Frédéric 21  
PINON Jean-Michel 18, 72  
PIOT Olivier 98  
PLUOT Michel 73  
PRANGÉ Thierry 39  
PROST Jacques 28  
QUINTANA Carmen 88  
QUIQUAMPOIX Hervé 99  
RÉAT Valérie 22  
RÉFRÉGIERS Matthieu 30  
RENAULT Jean-Philippe 92  
RENAULT Marie 96  
RETAILLEAU Pascal 39  
REVAULT Madeleine 99  
REZAEI Human 99  
RICHET E. 90  
RIOU Jean-François 46  
RODRIGUEZ Nicolas 21  
ROLS Marie-Pierre 85  
ROSU Frédéric 46  
ROUX Benoît 56  
ROYANT Antoine 63, 71, 102  
RUIZ Oscar 17  
RÄDLER Joachim 34  
SALESSE Roland 17  
SALOME Laurence 100  
SALVAYRE Robert 91  
SAMITIER Josep 17  
SARRAMEGNA Valérie 96  
SAULIERE Aude 100  
SAUVÉ Rémy 56  
SCHAUB Sebastien 29  
SCHERMAN Daniel 16  
SCHREIBER V. 90  
SEBAÏ Sarra 85  
SIMOES Manuel 56  
SIMONSON Thomas 42  
SIRE O. 77  
SIZUN Christina 89  
SOCKALINGUM Ganesh 18, 72  
SOLER Nicolas 78  
SOPKOVA-DE OLIVEIRA-SANTOS Jana 39  
SOUBIAS Olivier 22  
STADLER Andréas 57  
STORM Cornelis 24  
TALMONT Franck 96  
TARAN Frédéric 92  
TARDIN Catherine 33, 80  
TEHEI Moeava 51  
TEISSIE Justin 15  
TETREAU Catherine 101  
TFAYLI Ali 98  
TINNEFELD Philip 47  
TOUBAS Dominique 18, 72  
TOURNAMILLE C. 82  
TRAVERS Franck 87  
TREHEN Catherine 75  
TUFFÉRY Pierre 40  
VACHETTE Patrice 61  
VALADIÉ Hélène 57  
VELLIEUX Frederic 84  
VENTEO Lydie 73  
VERKHOVSKY Alexander 29  
VERNEDE Xavier 102  
VIGNERON George 75  
VOLLMER Jean-Yves 35  
WEIK Martin 102  
WEISS Shimon 47  
WESTBROOK Nathalie 78  
WESTHOF Eric 45  
WOLFF J. 77  
WONG H. 82  
WU Ting-Di 88  
YANG Ao 103  
YOSHIZAWA Satoko 78  
ZACCAI Giuseppe 51, 102  
ZACCAI Guiseppe 84  
ZANOTTI Jean-Marc 104  
ZELDOVITCH Konstantin 28



## **LISTE DES PARTICIPANTS**

**ABEL Stéphane**

Laboratoire d'Imagerie Paramétrique CNRS UMR 7623  
Institut des Cordeliers  
6 rue de l'École de Médecine  
75006 Paris  
Email : stephane.abel@lip.bhdc.jussieu.fr  
Tél : 0145886938  
Fax : 0145886938

**ALLAIN Jean-Marc**

Laboratoire de Physique Statistique,  
Ecole Normale Supérieure,  
24 rue Lhomond  
75231 Paris Cedex 05  
Email : jean-marc.allain@lps.ens.fr  
Tél : 0144323354  
Fax : 0144323433

**AMHARREF Nadia**

8 bis bd franchet d'esperey, n° 215  
résidence Berlioz  
51100 reims  
Email : nadia.amharref@univ-reims.fr  
Tél : 0326361849

**AZUARA Cyril**

Institut Pasteur  
Unité de Biochimie Structurale  
25, rue du docteur Roux  
75724 Paris Cedex 15  
Email : azuara@pasteur.fr  
Tél : 0140613111

**BALNY Claude**

INSERM, CNRS  
1919, route de Mende  
34293 MONTPELLIER Cedex  
Email : balny@montp.inserm.fr  
Tél : 0467613360  
Fax : 0467523681

**BANCAUD Aurélien**

Institut Curie - UMR 168  
11, rue Pierre et Marie Curie  
75231 Paris cedex 05  
Email : aurelien.bancaud@curie.fr  
Tél : 0142346468

**BELLISSENT-FUNEL Marie-Claire**

Laboratoire Léon Brillouin  
CEA/SACLAY  
91191 GIF/YVETTE/CEDEX  
Email : mcbel@llb.saclay.cea.fr  
Tél : 0169086066  
Fax : 0169331487

**BELOEIL Jean-Claude**

Centre de Biophysique Moléculaire  
CNRS - UPR 4301  
rue Charles Sadron  
45071 Orléans cedex 2  
Email : beloeil@cnrs-orleans.fr  
Tél : 0238255589  
Fax : 0238690151

**BOISSET Nicolas**

Laboratoire de Minéralogie Critstallographie de Paris  
UPMC - Campus Boucicaut, Bâtiment 7,  
140 Rue de Lourmel  
75015 Paris  
Email : nicolas.boisset@lmcp.jussieu.fr  
Tél : 0144274585  
Fax : 0144273785

**BOUYER Philippe**

Laboratoire Charles Fabry de l'Institut d'Optique  
Bat 503, centre scientifique  
91403 Orsay CEDEX  
Email : philippe.bouyer@iota.u-psud.fr  
Tél : 0169358798  
Fax : 0169358700

**BREUZARD Gilles**

Unité MéDIAN CNRS UMR  
UFR Pharmacie Champagne-Ardenne  
51 R Ue Cognacq-Jay  
51096 Reims Cedex  
Email : gilles.breuzard@univ-reims.fr  
Tél : 0326918125  
Fax : 0326913550

**BUREAU Michel-Francis**

Unité de Pharmacologie Chimique et Génétique  
U INSERM 640, FRE CNRS 2463  
Faculté de Pharmacie 4 av de l'Observatoire  
75006 Paris  
Email : michel-francis.bureau@univ-paris5.fr  
Tél : 0153739581  
Fax : 0143266918

**CAMPROUX Anne-Claude**

Tour 53-54, case 7113, 1 étage, université Paris 7  
2, place Jussieu  
75251 PARIS cedex 05  
Email : camproux@ebgm.jussieu.fr  
Tél : 0144277742

**CARLIER Marie-France**

Dynamique du Cytosquelette  
Laboratoire d'Enzymologie et Biochimie Structurales  
Centre National de la Recherche Scientifique  
91198 Gif-sur-Yvette  
Email : carlier@lebs.cnrs-gif.fr  
Tél : 0169823477

**CEZANNE Laurence**

IPBS/CNRS, 205 route de narbonne  
31062 TOULOUSE cedex  
Email : laurence.cezanne@ipbs.fr  
Tél : 0561175946

**CHABBERT Marie**

UMR CNRS 6188  
Faculté de médecine  
3, rue Haute de Reculée  
49045 ANGERS  
Email : marie.chabbert@univ-angers.fr  
Tél : 0241735873  
Fax : 0241735896

**CHALOIN Laurent**  
UMR5121 - CNRS - UM1 - Institut de Biologie  
4 Boulevard Henri IV  
CS89508  
34960 Montpellier cedex2  
Email : laurent.chaloin@univ-montp1.fr  
Tél : 0467600231  
Fax : 0467604420

**CHOMILIER Jacques**  
LMCP, Université Paris 6  
Case 115  
75252 Paris cedex 05  
Email : chomilie@lmcp.jussieu.fr  
Tél : 0144275079  
Fax : 0144273785

**CHOQUET Daniel**  
UMR5091 - Physiologie Cellulaire de la Synapse  
Université Bordeaux II  
33077 Bordeaux  
Email : dchoquet@u-bordeaux2.fr  
Tél : 0000000000

**COGNET Laurent**  
CPMOH - Université Bordeaux 1  
CNRS UMR 5798  
351 cours de la libération  
33405 Talence  
Email : l.cognet@cpmoh.u-bordeaux1.fr  
Tél : 0540006212  
Fax : 0540006970

**COLLOC'H Nathalie**  
CNRS UMR 6185, université de Caen  
bd Becquerel, Bp 5229  
14074 CAEN  
Email : n.colloch@neuro.unicaen.fr  
Tél : 0231566038  
Fax : 0231566199

**COTTEVIEILLE Magali**  
Laboratoire de Minéralogie et Cristallographie de  
Paris,  
CNRS UMR 7590,  
Universités Paris 6 et Paris 7,  
4 place Jussieu, case postale 115,  
75252 Paris cedex 05  
Email : cottevie@lmcp.jussieu.fr  
Tél : 0144274585  
Fax : 0144273785

**CRAESCU Constantin C.**  
INSERM/Institut Curie, Centre Universitaire Paris-Sud,  
Bâtim  
91405 Orsay  
Email : gil.craescu@curie.upsud.fr  
Tél : 0169863163  
Fax : 0169075327

**CRIBIER Sophie**  
Institut de Biologie Physico-Chimique  
13, rue Pierre et Marie Curie  
75005 Paris  
Email : sophie.cribier@ibpc.fr  
Tél : 0158415108  
Fax : 0158415024

**CROISY Alain**  
Institut Curie - Biophysique Moléculaire  
Centre Universitaire  
Bâtiment 110-112  
91405 Orsay cedex  
Email : alain.croisy@curie.u-psud.fr  
Tél : 0169863189

**DE BREVERN Alexandre**  
EBGM INSERM E03-46  
Université Paris VII, case 7113  
2 place Jussieu  
75251 PARIS Cedex 05  
Email : alexandre.debavern@ebgm.jussieu.fr  
Tél : 0144277731  
Fax : 0143263830

**DELARUE Marc**  
Unité de Biochimie Structurale  
URA 2185 du CNRS  
Institut Pasteur  
25 rue du Dr Roux  
75015 Paris  
Email : delarue@pasteur.fr  
Tél : 0145688605  
Fax : 0145688604

**DESMADRIL Michel**  
Lab. MIP - UMR 8619  
Bât 430  
Université de Paris-Sud  
91405 ORSAY  
Email : michel.desmadril@mip.u-psud.fr  
Tél : 0169157975  
Fax : 0169853715

**DORNIER Aurélie**  
21 rue Louis Rolland  
92120 Montrouge  
Email : aurelie.dornier@curie.fr  
Tél : 0687156066  
Fax : 0140510636

**DUFOURC Erick J.**  
UMR 5144 CNRS - Université Bordeaux 1  
"Molécules biomolécules et objets supramoléculaires"  
(MOBI)  
Institut Européen de Chimie et Biologie, (IECB)  
2 rue Robert Escarpit  
33607 Pessac  
Email : e.dufourc@iecb.u-bordeaux.fr  
Tél : 0540002218  
Fax : 0540002218

**DURIN Guillaume**  
IBS  
LCCP  
41, rue Jules Horowitz  
38027 Grenoble Cedex 1 France  
Email : durin@esrf.fr  
Tél : 0438786723  
Fax : 0438785122

**EBEL Christine**  
Institut de Biologie Structurale  
41, rue Jules Horowitz  
38027 Grenoble  
Email : christine.ebel@ibs.fr  
Tél : 0438789638  
Fax : 0438785494

**ESSENDOUBI Mohammed**  
Unité Médiante CNRS UMR 6142, UFR Pharmacie  
IFR 53, Université de Reims Champagne Ardenne  
51 rue Cognacq-Jay  
51096 Reims CEDEX  
Email : mohammed.essendoubi@univ-reims.fr  
Tél : 0326918126  
Fax : 0326913550

**ETCHEBEST Catherine**  
Université Paris VII  
Equipe de Bioinformatique Genomique et Moleculaire  
INSERM E0346 - Case Courrier 7113  
2 Place Jussieu  
75251 Paris cedex 05  
Email : cathy@ebgm.jussieu.fr  
Tél : 0144277719  
Fax : 0143263830

**FIEULAINIE Sonia**  
Institut de Biologie Structurale J-P Ebel (IBS)  
Laboratoire de Cristallographie et de Cristallogenèse  
des Pr  
41 rue Jules Horowitz  
38027 GRENOBLE cedex 1  
Email : sonia.fieulaine@ibs.fr  
Tél : 0438789596  
Fax : 0438785122

**HAANAPPEL Evert**  
Laboratoire National des Champs Magnétiques Pulsés  
B.P. 14245  
143, avenue de Rangueil  
31432 Toulouse Cedex 4  
Email : haanappel@lncmp.org  
Tél : 0562172861  
Fax : 0562172816

**KHEMTEMOURIAN Lucie**  
Institut Européen de Chimie et Biologie  
2 rue Robert Escarpit  
33607 Pessac cedex  
Email : l.khemtemourian@iecb.u-bordeaux.fr  
Tél : 0540003025  
Fax : 0540003073

**LACROIX Pascaline**  
Laboratoire de photophysique moléculaire  
bat 210  
université paris sud  
91405 orsay cedex  
Email : pascaline.lacroix@ppm.u-psud.fr  
Tél : 0169157636  
Fax : 0169156777

**LAVALETTE Daniel**  
INSTITUT CURIE-INSERM  
BATIMENT 112  
CENTRE UNIVERSITAIRE  
91405 ORSAY  
Email : daniel.lavalette@curie.u-psud.fr  
Tél : 0169863181

**LE TILLY Véronique**  
Université de Bretagne-Sud  
L2PIC, CER Y. Coppens  
Campus de Tohannic  
BP573  
56017 Vannes cedex  
Email : letilly@univ-ubs.fr  
Tél : 0297017070

**LECOMPTE Marie-France**  
Faculté de Médecine de Rangueil  
133 route de Narbonne  
31062 TOULOUSE  
Email : lecomppte@cict.fr  
Tél : 0562889076  
Fax : 0562889021

**LECOMTE Sophie**  
LADIR, CNRS/UPMC  
2 rue Henri Dunant  
94320 Thiais  
Email : lecomte@glvt-cnrs.fr  
Tél : 0149781113  
Fax : 0149781118

**LETELLIER Lucienne**  
IBBMC  
Université Paris Sud, Bât 430  
91405 ORSAY CEDEX  
Email : lucienne.letellier@biomemb.u-psud.fr  
Tél : 0169156429  
Fax : 0169154727

**LIONNE Corinne**  
UMR 5121, CNRS/Université Montpellier I  
Institut de Biologie  
4, bd Henri IV (CS 89508)  
34960 Montpellier Cedex 2  
Email : corinne.lionne@univ-montp1.fr  
Tél : 0467600595  
Fax : 0467604420

**LOUDET Cécile**  
Institut Européen de Chimie et Biologie  
UMR MoBioS 5144  
Groupe RMN  
2 rue Robert Escarpit  
33607 PESSAC  
Email : c.loudet@iecb.u-bordeaux.fr  
Tél : 0540003025  
Fax : 0540003073

**LOUIT Guillaume**  
CEA Saclay  
Service de Chimie Moléculaire/URA 331 CNRS  
Laboratoire de Radiolyse  
91191 Gif sur Yvette  
Email : louit@drecam.cea.fr  
Tél : 0169081552  
Fax : 0169083466

**MALLIAVIN Thérèse**  
Laboratoire de Biochimie Théorique  
Institut de Biologie Physico-Chimique  
15 rue P. et M. Curie  
75005 Paris  
Email : therese.malliavin@ibpc.fr  
Tél : 0158415168  
Fax : 0158415026

**MANFAIT Michel**  
Unité MéDIAN, CNRS UMR 6142  
Faculté de Pharmacie, IFR 53  
Université de Reims Champagne-Ardenne  
51 rue Cognacq-Jay  
51096 REIMS  
Email : michel.manfait@univ-reims.fr  
Tél : 0680480809  
Fax : 0326913550

**MARGEAT Emmanuel**  
CENTRE DE BIOCHIMIE STRUCTURALE  
29 rue de Navacelles  
34000 MONTPELLIER  
Email : margeat@cbs.cnrs.fr  
Tél : 0467417916

**MAURIZOT Jean-Claude**  
Centre de biophysique moléculaire  
Rue Charles Sadron  
45071 Orléans cedex 2  
Email : maurizot@cnrs-orleans.fr  
Tél : 0238255572

**MERGNY Jean-Louis**  
Laboratoire de Biophysique, INSERM U565  
Museum National d'Histoire Naturelle USM 503  
43 rue Cuvier  
75005 Paris  
Email : mergny@vnumail.com  
Tél : 0140793689  
Fax : 0140793705

**MHAMDI Lotfi**  
Ecole Centrale de Lyon  
Labo. Cégely UMR 5005-CNRS  
36 Av. G. DE COLLONGUE  
Ecully cedex-FRANCE  
69134 Lyon  
Email : lotfi.mhamdi@ec-lyon.fr  
Tél : 0472186107  
Fax : 0478433969

**MINIC Jasmina**  
INRA Domaine de Vilvert  
NOPA-RCC  
Bat Biotechnologies  
78352 Jouy-en-Josas Cedex  
Email : jminic@jouy.inra.fr  
Tél : 0134652563  
Fax : 0134652241

**MIRON Simona**  
Centre de Biophysique Moléculaire,  
Rue Charles Sadron,  
45071 ORLEANS  
Email : miron@cnrs-orleans.fr  
Tél : 0238255579  
Fax : 0238690151

**MOUAWAD Liliane**  
Institut Curie  
Bât 112  
Unité de Biophysique Moléculaire  
Université Paris-Sud  
91405 Orsay  
Email : liliane.mouawad@curie.u-psud.fr  
Tél : 0169867151

**NOINVILLE Sylvie**  
CNRS-Université Paris 6  
LADIR, 2 rue Henri Dunant  
94320 Thiais  
Email : sylvie.noinville@glvt-cnrs.fr  
Tél : 0149781292  
Fax : 0149781118

**ORLOWSKI Stéphane**  
SBFM / DBJC  
CEA Saclay  
91191 Gif-sur-Yvette  
Email : orlowski@dsvidf.cea.fr  
Tél : 0169089577  
Fax : 0169088139

**PAJOT Edith**  
INRA - NOPA - RCC  
Domaine de Vilvert  
78352 Jouy-en-Josas Cedex  
Email : pajot@jouy.inra.fr  
Tél : 0134652563  
Fax : 0134652241

**PANTALONI Dominique**  
LEBS - CNRS  
AVENUE DE LA TERRASSE  
GIF SUR YVETTE  
91198 GIF SUR YVETTE  
Email : panta@lebs.cnrs-gif.fr  
Tél : 0169823489  
Fax : 0169823478

**PAUTHE Emmanuel**  
Université de Cergy-Pontoise ERRMECe  
2 av A Chauvin BP 222  
95302 CERGY-PONTOISE cedex  
Email : emmanuel.pauthe@bio.u-cergy.fr  
Tél : 0134256601  
Fax : 0134256552

**PERCOT Aline**  
2 rue H. Dunant  
94320 Thiais  
Email : aline.percot@glvt-cnrs.fr  
Tél : 0149781115  
Fax : 0149781118

**PICOT Daniel**  
Institut de Biologie Physico Chimique  
13, rue Pierre et Marie Curie  
75005 Paris  
Email : daniel.picot@ibpc.fr  
Tél : 0158415103  
Fax : 0158415024

**PIN Serge**  
CEA Saclay  
Service de Chimie Moléculaire/URA 331 CNRS  
Laboratoire de Radiolyse  
91191 Gif sur Yvette  
Email : spin@drecam.cea.fr  
Tél : 0169081549  
Fax : 0169083466

**PIOT Olivier**  
Unité MéDIAN CNRS UMR6142  
UFR Pharmacie  
51 rue Cognacq Jay  
51096 REIMS Cedex  
Email : olivier.piot@univ-reims.fr  
Tél : 0326918128  
Fax : 0326913550

**PONCHON Luc**  
14,rue ponscarne  
75013 paris  
Email : ponchon@cbs.cnrs.fr  
Tél : 0625306167

**QUINIOU Eric**  
Institut Curie  
Laboratoire Raymond Latarjet  
Centre Universitaire  
Bâtiment 110-112  
91405 Orsay  
Email : eric.quiniou@curie.u-psud.fr  
Tél : 0169863175  
Fax : 0169863109

**REAT Valérie**  
Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale  
205, route de Narbonne  
31077 Toulouse  
Email : valerie.reat@ipbs.fr  
Tél : 0561175418

**RENAULT Marie**  
IPBS  
205 route de Narbonne  
31077 toulouse  
Email : renauld@ipbs.fr  
Tél : 0561175418

**ROLS Marie-Pierre**  
IPBS-CNRS (UMR 5089)  
205 route de Narbonne  
31077 Toulouse  
Email : marie-pierre.rols@ipbs.fr  
Tél : 0561175811  
Fax : 0561175994

**ROYANT Antoine**  
Institut de Biologie Structurale  
41, rue Jules Horowitz  
38027 Grenoble Cedex 1  
Email : royant@ibs.fr  
Tél : 0438786723  
Fax : 0438785122

**SAULIERE Aude**  
IPBS/CNRS, 205 route de narbonne  
31062 TOULOUSE cedex  
Email : aude.sauliere@ipbs.fr  
Tél : 0561175800

**SCHAUB Sebastien**  
SG AAB 139  
Laboratoire de Biophysique Cellulaire  
Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne  
1015 Lausanne - SUISSE  
Email : sebastien.schaub@epfl.ch  
Tél : ++41216938392  
Fax : ++41216938305

**SIMOES Manuel**  
214 rue duluth Est #207  
Montréal (Québec)  
CANADA H2W 1H6  
Email : manuel.simoies@umontreal.ca  
Tél : +15148493104

**SIMONSON Thomas**  
Laboratoire de Biochimie  
Ecole Polytechnique  
91128 Palaiseau  
Email : thomas.simonson@polytechnique.fr  
Tél : 0169333881  
Fax : 0169333013

**SKOURI-PANET Ferial**  
laboratoire de Minéralogie- cristallographie  
Campus Boucicaud  
140 rue de Lourmel  
75015 paris  
Email : feriel.skouri@lmcp.jussieu.fr  
Tél : 0144275081  
Fax : 0144273785

**TALMONT Franck**  
IPBS-CNRS, 25 route de Narbonne  
31077 Toulouse  
Email : franck.talmont@ipbs.fr  
Tél : 0561175422  
Fax : 0561175994

**TARDIEU Annette**  
149 Bld Brune  
75014 paris  
Email : tardieu@ijm.jussieu.fr  
Tél : 0622061763

**TEHEI Moeava**  
15 Rue Jean Mace  
38000 Grenoble  
Email : tehei\_moeava@yahoo.fr  
Tél : 0870226712

**TEISSIE Justin**  
IPBS CNRS 205 route de Narbonne  
31077 Toulouse  
Email : justin.teissie@ipbs.fr  
Tél : 0561175812  
Fax : 0561175994

**TETREAU Catherine**  
Institut Curie Batiment 112  
Centre Universitaire- Batiment 112  
19 rue Georges Clémenceau  
Orsay  
91405 Orsay  
Email : catherine.tetreau@curie.u-psud.fr  
Tél : 0169863169  
Fax : 0169075327

**TRAVERS Franck**  
Infections Rétrovirales et Signalisation Cellulaire  
Institut de Biomogé, UMR CNRS 5121  
4, Bd Henri IV CS 89508  
34960 MONTPELLIER Cedex 2  
Email : franck.travers@univ-montp1.fr  
Tél : 0467600570  
Fax : 0467600595

**VALADIÉ Hélène**  
CEA-DRDC-DSV-BMC  
UMR 5090  
17, Rue des martyrs  
38041 Grenoble  
Email : valadiehe@dsvsud.cea.fr  
Tél : 0438784212  
Fax : 0438785487

**VILLARD Catherine**  
CNRS/CRTBT, 25 avenue des Martyrs, BP 166  
38042 Grenoble  
Email : catherine.villard@grenoble.cnrs.fr  
Tél : 0476889033  
Fax : 0476881280

**WEIK Martin**  
Laboratoire de Biophysique Moléculaire  
Institut de Biologie Structurale  
41, rue Jules Horowitz  
38027 Grenoble  
Email : weik@ibs.fr  
Tél : 0438789569  
Fax : 0438785494

**WESTHOF Eric**  
Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire  
CNRS UPR9002  
15, rue René Descartes  
67084 Strasbourg cedex  
Email : e.westhof@ibmc.u-strasbg.fr  
Tél : 0388417046  
Fax : 0388417066

**WOOD Kathleen**  
Institut Laue Langevin  
6 rue Jules Horowitz  
BP 156  
Grenoble Cedex 9  
38042 Grenoble  
Email : kwood@ill.fr  
Tél : 0476207338  
Fax : 0476207688

**YANG Ao**  
INSER/Institut Curie, Centre Universitaire Paris-Sud,  
Bâtiment  
91405 Orsay  
Email : ao.yang@curie.upsud.fr  
Tél : 0169863162  
Fax : 0169075327

## **TABLE DES MATIÈRES**



## CONFÉRENCE D'HONNEUR

DE L'UTILISATION DU PARAMÈTRE PRESSION EN BIOPHYSIQUE.....	11
C. Balny	

## LA MEMBRANE *IN VIVO*

DÉSTABILISATIONS ÉLECTRIQUES DES MEMBRANES BIOLOGIQUES : ASPECTS THÉORIQUES, DÉVELOPPEMENTS EXPÉRIMENTAUX ET ( BIEN TÔT ) PERSPECTIVES PRATIQUES .....	15
J. Teissie	
IMAGERIE OPTIQUE DE LA TRANSFECTION ET DE LA PERMEABILISATION DU MUSCLE TIBIAL CRANIAL CHEZ LA SOURIS APRES ELECTROTRANSFERT.....	16
M. F. Bureau et D. Scherman	
IMPEDANCEMETRY AND AFM CHARACTERIZATION OF RHODOPSIN OR OLFATORY RECEPTORS SPECIFICALLY IMMOBILIZED ON A BIOSTRUCTURED SURFACE. ....	17
F. Bessueille, A. Errachid, G. Gomila, T. Gorojankina, S. Helali, Y. Hou, N. Jaffrezic-Renault, J. Minic, E. Pajot-Augy, M.-A. Persuy, O. Ruiz, R. Salesse et J. Samitier	
IDENTIFICATION ET TYPAGE PAR (MICRO)-SPECTROSCOPIE IR-TF DE LEVURES DU GENRE CANDIDA ISOLÉES EN MILIEU CLINIQUE. ....	18
M. Essendoubi, G. Sockalingum, M. Manfait, J.-M. Pinon et D. Toubas	

## MODÈLE DE MEMBRANE

COHÉSION MEMBRANAIRE : ÉTUDE EN VÉSICULES GÉANTES UNILAMELLAIRES.....	21
S. Cribier, N. Rodriguez et F. Pincet	
RMN DE STÉROLS EN MEMBRANE : DE L'ATTRIBUTION EXPÉRIMENTALE À L'ANALYSE DÉTAILLÉE DES DÉPLACEMENTS CHIMIQUES PAR MÈTHODE DE CHIMIE QUANTIQUE .....	22
O. Soubias, V. Réat, F. Jolibois et A. Milon	
BICELLES DONT LA NORMALE S'ORIENTE PARALLÈLEMENT AU CHAMP MAGNÉTIQUE: SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION PAR RMN DES SOLIDES .....	23
C. Loudet, S. Gineste, M.-F. Achard et E. J. Dufourc	
FISSION D'UN TUBE DE MEMBRANE MULTIPHASE .....	24
J.-M. Allain, C. Storm, J.-F. Joanny et M. Ben Amar	

## MOTILITÉ

CONTRÔLE DE LA POLYMÉRISATION DE L'ACTINE DANS LA MOTILITÉ CELLULAIRE .....	27
M.-F. Carlier	
ETUDE DU MOUVEMENT D'UNE KINÉSINE UNIQUE PAR MICROSCOPIE INTERFÉRENTIELLE EN RÉFLEXION TOTALE.....	28
A. Dornier, L. Busoni, K. Zeldovitch, G. Cappelletto et J. Prost	
ANALYSIS OF THE STRUCTURE AND DYNAMICS OF THE LAMELLIPODIA USING THE COMPARISON OF EXPERIMENTAL AND SIMULATED IMAGES .....	29
S. Schaub, J.-J. Meister et A. Verkhovsky	
DISCO : UNE LIGNE DE LUMIÈRE POUR LA BIOPHYSIQUE SUR LE SYNCHROTRON SOLEIL .....	30
J. C. Maurizot, O. Laprèvote, S. Miron et M. Réfrégiers	

## DYNAMIQUE *IN VIVO*

SINGLE MOLECULE DETECTION REVEALS UNEXPECTED MOBILITY OF RECEPTORS IN SYNAPSES .....	33
C. Bats, L. Cognet, L. Groc, M. Heine, C. Tardin, B. Luonis et D. Choquet	
DYNAMIQUE DE L'ÉJECTION DE L'ADN DE VIRUS BACTÉRIEN : ÉTUDE PAR MICROSCOPIE DE FLUORESCENCE SUR PARTICULE VIRALE UNIQUE .....	34
S. Manganot, M. Hochrein, J. Rädler et L. Letellier	
COMPARTIMENTATION DYNAMIQUE DES RÉCEPTEURS NK2 DANS LA MEMBRANE PLASMIQUE DE CELLULES HEK : APPROCHE PAR FRAP À RAYON VARIABLE.....	35
L. Cézanne, S. Lecat, B. Lagane, C. Millot, J.-Y. Vollmer, H. Matthes, J.-L. Galzi et A. Lopez	

<b>IMAGERIE SPECTRALE ET TEMPORELLE DE L'ÉMISSION DE FLUORESCENCE POUR L'ÉTUDE DE LA RÉSISTANCE DES BIOFILMS AUX AGENTS ANTIMICROBIENS .....</b>	<b>36</b>
P. Lacroix, R. Briandet, L. Jacoly, M.-N. Bellon-Fontaine et M.-P. Fontaine-Aupart	

## **PROTÉINES : THÉORIE & MODÉLISATION**

<b>ANALYSE DES SITES DE LIAISON DE DEUX GAZ ANESTHÉSQUES, LE XÉNON ET LE PROTOXYDE D'AZOTE, PAR CRISTALLOGRAPHIE ET MODÉLISATION PAR HOMOLOGIE. ....</b>	<b>39</b>
N. Colloc'h, J. Sopkova-De Oliveira-Santos, P. Retailleau, T. Prangé et J. Abraini	
<b>A HIDDEN MARKOV MODEL DERIVED STRUCTURAL ALPHABET FOR PROTEINS .....</b>	<b>40</b>
A.-C. Camproux, R. Gautier et P. Tufféry	
<b>PRÉDICTION DES RÉSIDUS DU NOYAU DU REPLIEMENT PROTÉIQUE.....</b>	<b>41</b>
J. Chomilier, A. Lopes et N. Papandreou	
<b>EVOLUTION DE PROTÉINES: SIMULATION ET CONTROLE .....</b>	<b>42</b>
T. Simonson, A. Jaramillo, J. Noirel, G. Launay, C. Haberkorn et E. Calvez	

## **ACIDES NUCLÉIQUES**

<b>RECONNAISSANCE MOLÉCULAIRE ENTRE LE SITE DE DÉCODAGE BACTÉRIEN ET LES ANTIBIOTIQUES DE LA FAMILLE DES AMINOGLYCOSIDES.....</b>	<b>45</b>
E. Westhof	
<b>UNUSUAL DNA STRUCTURES AND TELOMERASE INHIBITORS .....</b>	<b>46</b>
L. Guittat, A. De Cian, P. Alberti, D. Gomez, F. Rosu, J.-F. Riou, P. Mailliet, L. Lacroix et J.-L. Mergny	
<b>ETUDE DE L'INITIATION DE LA TRANSCRIPTION PAR FLUORESCENCE DE MOLECULES UNIQUES .....</b>	<b>47</b>
E. Margeat, A. Kapanidis, N.-K. Lee, P. Tinnefeld, R. Ebright et S. Weiss	

## **PRIX DU JEUNE CHERCHEUR**

<b>ADAPTATION DE LA DYNAMIQUE MOLÉCULAIRE AUX CONDITIONS EXTRÊMES .....</b>	<b>51</b>
M. Tehei, C. Pfister et G. Zaccai	

## **STRUCTURE MOLÉCULAIRE**

<b>LA SIGNATURE CACHÉE DU CYTOCHROME B6F .....</b>	<b>55</b>
D. Picot	
<b>COMPUTER-BASED MODELING OF THE EFFECT OF MTSET REAGENT (METHANETHIOSULFONATE) ON THE ION FLOW IN IKCA CHANNEL. ....</b>	<b>56</b>
M. Simoes, U. Banderali, L. Garneau, H. Klein, B. Roux et R. Sauvé	
<b>EFFET DE LA MODIFICATION DE L'ENVIRONNEMENT MEMBRANAIRE SUR LE COMPORTEMENT STRUCTURAL D'UN CANAL MÉCANOSENSIBLE, LE MSCL.....</b>	<b>57</b>
H. Valadié, A. Stadler et C. Etchebest	
<b>UTILISATION DES MODES NORMAUX DANS L'AFFINEMENT DE MODELES STRUCTURAUX D'ASSEMBLAGES MACROMOLECULAIRES CONTRE DES DONNEES DE CRISTALLOGRAPHIE OU DE MICROSCOPIE ELECTRONIQUE .....</b>	<b>58</b>
M. Delarue	

## **DYNAMIQUE STRUCTURALE**

<b>APPROCHE MULTI-TECHNIQUES DE LA DYNAMIQUE DE TRANSFORMATION STRUCTURALE DU TOMATO BUSHY STUNT VIRUS .....</b>	<b>61</b>
R. Aramayo, C. Méricoux, E. Larquet, P. Bron, J. Pérez, P. Vachette et N. Boisset	
<b>ETUDES BIOCHIMIQUES ET BIOPHYSIQUES DE LA DYNAMIQUE STRUCTURALE ET CONFORMATIONNELLE DE LA FIBRONECTINE PLASMATIQUE HUMAINE .....</b>	<b>62</b>
S. Patel, A. Chaffotte, F. Goubard et E. Pauthe	
<b>MISE EN ÉVIDENCE DU COUPLAGE ENTRE TRANSITION VITREUSE DU SOLVANT ET ACTIVITÉ ENZYMATIQUE DE LA PROTOCHLOROPHYLLIDE OXYDORÉDUCTASE.....</b>	<b>63</b>
G. Durin, A. Royant, D. Heyes et D. Bourgeois	

## SESSION DE CLÔTURE

NOUVEAUX DÉVELOPPEMENTS EN SPECTROSCOPIE DE RÉSONANCE MAGNÉTIQUE (SRM) À HAUT CHAMP. APPLICATIONS AU PETIT ANIMAL (RAT, SOURIS).....	67
J.-C. Beloeil	

## COMMUNICATIONS PAR AFFICHES

STRUCTURE DE LA SUPEROXYDE RÉDUCTASE LIÉE AU FERROCYANURE, ET EXPANSION DU SITE ACTIF INDUITE PAR PHOTO-RÉDUCTION.....	71
V. Adam, A. Royant, V. Nivière, F. P. Molina-Heredia et D. Bourgeois	
APPLICATION DE LA SPECTROSCOPIE IRTF A L'ETUDE COMPARATIVE DE SOUCHES DE C. ALBICANS SEPTICÉMIQUES, COLONISANTES ET COMMENSALES.....	72
I. Adt, G. Sockalingum, F. Dalle, A. Kohler, A. Bonnin, J.-M. Pinon, M. Manfait et D. Toubas	
CARACTÉRISATION TISSULAIRE ET INFLUENCE DE MÉDICAMENTS ANTICANCÉREUX SUR UN MODÈLE DE GLIOME : ETUDE PAR MICROSPECTROSCOPIE OPTIQUE .....	73
N. Amharref, S. Dukic, A. Beljebbar, L. Venteo, M. Pluot et M. Manfait	
ETUDE DE LA SOLVATATION DES PROTEINES .....	74
C. Azuara, H. Orland et M. Delarue	
REDUCTION DES PROTEINES PAR L'ELECTRON HYDRATE : EFFET DE LA PRESSION.....	75
C. Bataille, G. Baldacchino, R. Cosson, M. Coppo, C. Trehen, G. Vigneron et S. Pin	
TRANSFERT D'ÉLECTRON ENTRE CYTOCHROME C552 ET MODÈLES DE SON PARTENAIRE OXYDANT : ETUDE PAR SPECTROMÉTRIES DE VIBRATION ET ÉLECTROCHIMIE .....	76
S. Bernad, S. Noinville et S. Lecomte	
INTERACTIONS SPÉCIFIQUES ENTRE LE RÉCEPTEUR AUX ŒSTROGÈNES ET SES SÉQUENCES ERE : .....	77
A. Bouter, V. Le Tilly, J. Wolff et O. Sire	
DÉTECTION ET MANIPULATION PHOTONIQUE DE MOLÉCULES INDIVIDUELLES APPLIQUÉES À L'ETUDE DES MOUVEMENTS MOLÉCULAIRES ESSENTIELS À LA FONCTION DU RIBOSOME.....	78
P. Bouyer, C. Mauroy, N. Soler, D. Fourmy, S. Yoshizawa et N. Westbrook	
DOES THE LOW INTRACELLULAR UPTAKE OF MITOXANTRONE IN BCRP/MXR RESISTANT CELLS RELATE A HIGHER DRUG ADSORPTION ON PLASMA MEMBRANE ? .....	79
G. Breuzard, J.-F. Angiboust, M. Manfait et J.-M. Millot	
DÉTECTION OPTIQUE DE PROTÉINES INDIVIDUELLES MARQUÉES PAR DES NANOPARTICULES MÉTALLIQUES DANS DES CELLULES.....	80
L. Cagnet, C. Tardin, S. Berciaud, G. Blab, D. Choquet et B. Lounis	
ÉTUDE STRUCTURALE DU COMPLEXE MULTI AMINOACYL-TRNA SYNTHETASE DE MAMMIFÈRE PAR CRYOMICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE .....	81
M. Cotteville, L. Guigou, M. Mirande, D. Lévy, É. Larquet et N. Boisset	
A STRUCTURAL MODEL OF SEVEN TRANSMEMBRANE HELICES RECEPTOR DUFFY ANTIGEN / RECEPTOR FOR CHEMOKINES.....	82
A. De Brevern, H. Wong, C. Tournamille, Y. Colin, C. Le Van Kim et C. Etchebest	
MODELISATION MOLECULAIRE DES RECEPTEURS DE L'ANGIOTENSINE II.....	83
J. Deville et M. Chabbert	
SOLVATION, STABILITY AND SOLUBILITY OF HALOPHILIC PROTEINS .....	84
C. Ebel, L. Costenaro, A. Irimia, D. Madern, F. Vellieux et G. Zaccai	
CONSÉQUENCES MEMBRANAIRES DE L'ELECTROPERMÉABILISATION : MICRODOMAINES ET ALTÉRATION DE LA MOBILITÉ TRANSVERSE DES PHOSPHOLIPIDES. ....	85
C. Faurie, S. Sebaï, M. Golzio, J. Teissié et M.-P. Rols	
ETUDE STRUCTURALE DE LA SUCROSE-6-PHOSPHATE PHOSPHOHYDROLASE (SPP) DE SYNECHOCYSTIS SP. PCC6803.....	86
S. Fieulaine, J. Lunn, F. Borel et J.-L. Ferrer	
ÉTUDES CRYOENZYMOLOGIQUES DE LA 3-PHOPHOGLYCÉRATE KINASE: CORRÉLATION ENTRE CINÉTIQUES TRANSITOIRES ET DONNÉES STRUCTURALES.....	87
A. Geerlof, C. Lionne, L. Chaloin, F. Travers et T. Barman	
APPLICATION DE L'IMAGERIE SIMS À LA BIOLOGIE : QUELQUES PROBLÈMES LIÉS À LA RÉOLUTION EN MASSE ET À L'ÉMISSIVITÉ DES IONS SECONDAIRES. ....	88
J.-L. Guerquin-Kern, T.-D. Wu, C. Quintana et A. Croisy	

<b>ETUDE DE LA DIMÉRISATION DES PEPTIDES NEU/ERBB-2 ET NEU*/ERBB-2 DANS DES MODÈLES DE MEMBRANES .....</b>	<b>89</b>
L. Khemtémourian, F. Aussenac, C. Sizun et E. J. Dufourc	
<b>OLIGOMERIC ASSEMBLIES OF ESCHERICHIA COLI MALT TRANSCRIPTIONAL ACTIVATOR REVEALED BY CRYO-ELECTRON MICROSCOPY AND IMAGE PROCESSING .....</b>	<b>90</b>
É. Larquet, V. Schreiber, N. Boisset et E. Richet	
<b>INSERTION DE MOLECULES HYDROSOLUBLES DANS DES MONOCOUCHEs LIPIDIQUES: ETAPES D'INSERTION, EFFETS DE SEUIL.....</b>	<b>91</b>
M.-F. Lecompte, R. Salvayre, G. Laurent et J. P. Jaffrezou	
<b>DÉVELOPPEMENT DE NOUVELLES SONDÉS FLUORESCENTES POUR LA DÉTECTION DU RADICAL HYDROXYLE.....</b>	<b>92</b>
G. Louit, F. Taran, G. Baldacchino, H. Coffigny, J.-P. Renault et S. Pin	
<b>LE PAYSAGE CONFORMATIONNEL DE LA PROTÉINE RIBOSOMIQUE S15 .....</b>	<b>93</b>
T. E. Malliavin, T. Créty et A. Mazur	
<b>NOUVEAUX DÉVELOPPEMENTS DU MODÈLE MULTI-PHARMACOPHORIQUE DE LA P-GLYCOPROTÉINE, LE TRANSPORTEUR ABC-B1 DE LA RÉSISTANCE MULTIDROGUE .....</b>	<b>94</b>
S. Martin, N. Loiseau, J.-M. Gomis, M. Delaforge, F. André et S. Orłowski	
<b>CARACTÉRISATION DES CAVITÉS ET DES CHEMINS DE PASSAGE DES LIGANDS DANS L'HÉMOGLOBINE HUMAINE .....</b>	<b>95</b>
L. Mouawad, J.-D. Maréchal et D. Perahia	
<b>ANALYSE PAR DICHROISME CIRCULAIRE DU RECEPTEUR MU OPIOÏDE SOLUBILISÉ DANS DES DETERGENTS.....</b>	<b>96</b>
I. Muller, V. Sarramegna, M. Renault, V. Lafaquière, A. Milon et F. Talmont	
<b>VECTORISATION D'ADN PAR DES LIPOSOMES CATIONIQUES : CARACTÉRISATION DES COMPLEXES .....</b>	<b>97</b>
A. Percot, S. Lecomte, M.-H. Baron, A. Cao et R. Coudert	
<b>DISCRIMINATION DES LESIONS CUTANÉES BENIGNE ET MALIGNÉ (NAEVUS ET MELANOME) PAR MICROSPECTROSCOPIE VIBRATIONNELLE .....</b>	<b>98</b>
O. Piot, A. Tfayli, P. Bernard et M. Manfait	
<b>DIFFÉRENTES STRUCTURES BÉTA DE LA PROTÉINE PRP OVINE INDUITES À L'INTERFACE LIQUIDE/SOLIDE.....</b>	<b>99</b>
M. Revault, H. Rezaei, M.-H. Baron, H. Quiquampoix, J. Grosclaude et S. Noinville	
<b>ORGANISATION DYNAMIQUE DU RÉCEPTEUR HMOP À LA SURFACE DE NEUROBLASTOMES. ....</b>	<b>100</b>
A. Sauliere, G. Gaibelet, C. Millot, S. Mazerés, A. Lopez, L. Salomé et L. Cézanne	
<b>MIGRATION DU LIGAND ET RELAXATION DE LA PROTÉINE DANS LA DYNAMIQUE DE RECOMBINAISON DE CO AVEC LE CYTOCHROME P450CAM .....</b>	<b>101</b>
C. Tetreau, L. Mouawad et D. Lavalette	
<b>EXPERIMENTAL APPROACHES TO STUDY THE DYNAMICS OF CHOLINESTERASES .....</b>	<b>102</b>
M. Weik, J. Colletier, A. Royant, F. Gabel, X. Vernede, G. Zaccai et D. Bourgeois	
<b>BASES MOLECULAIRES DE LA FONCTION DES CENTRINES HUMAINES .....</b>	<b>103</b>
A. Yang, S. Miron, P. Duchambon, Y. Blouquit, C. Firanesco et C. T. Craescu	
<b>DYNAMICS OF ASPARTATE TRANSCARBAMYLASE IN T AND R FORMS .....</b>	<b>104</b>
J.-M. Zanotti, M.-C. Bellissent-Funel et G. Hervé	
<b>Index par auteur.....</b>	<b>107</b>
<b>Liste des participants.....</b>	<b>111</b>
<b>Table des matières.....</b>	<b>119</b>