



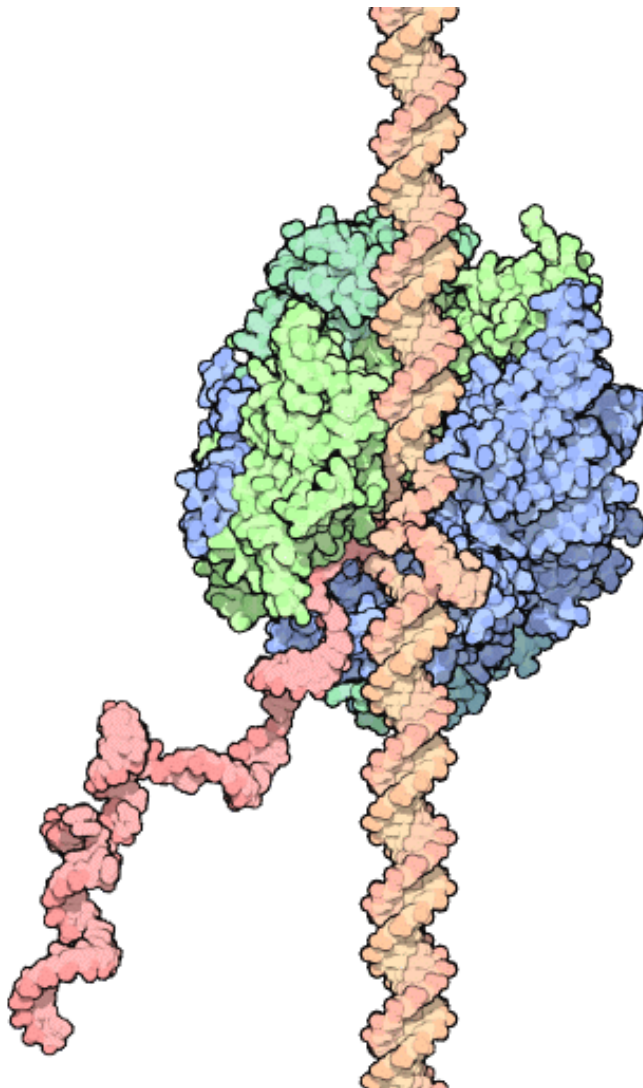
BIOPHYSIQUE 2008 : XXI^e congrès



30 septembre - 3 octobre 2008
FIGEAC

Société Française de Biophysique
Groupes thématiques:

- Interaction Acides Nucléiques-Protéines et Expression du Génome *
- Groupe de Graphisme et de Modélisation Moléculaire **



21^{ème} Congrès de la Société Française de Biophysique
30 septembre - 3 octobre 2008
Figeac - Lot

Mardi 30 septembre	Mercredi 1 ^{er} octobre	Jeudi 2 octobre	Vendredi 3 octobre
	9:00	9:00	9:00
	Nouvelles méthodes, nouvelles approches en biophysique des acides nucléiques	Structure et dynamique des protéines solubles	Groupe de Graphisme et de Modélisation Moléculaire
	9:30	9:30	9:30
	Session conjointe 3	Session 3	Session 1
	10:00	10:00	10:00
	10:30	10:30	10:30
	Pause café	Pause café	Groupe de Graphisme et de Modélisation Moléculaire
	11:00	11:00	11:00
	Nouvelles méthodes, nouvelles approches en biophysique des acides nucléiques	Biophysique cellulaire	Session 2
	11:30	11:30	11:30
	Session conjointe 4	Session 4	Déjeuner - Départ
	12:00	12:00	12:00
	12:30	12:30	12:30
	Déjeuner	Déjeuner	
	13:00	13:00	13:00
	13:30	13:30	13:30
	14:00	14:00	14:00
Ouverture du Congrès			
	14:30	14:30	14:30
Nouvelles méthodes, nouvelles approches en biophysique des acides nucléiques	Nouvelles approches RMN en biologie	Bioénergétique	
15:00	15:00	15:00	15:00
Session conjointe 1	Session 1	Session 5	
15:30	15:30	15:30	15:30
	16:00	16:00	16:00
Pause café & Scéance Poster	Session Poster I	Session Poster II	
16:30	16:30	16:30	16:30
17:00	17:00	17:00	17:00
	17:30	17:30	17:30
Nouvelles méthodes, nouvelles approches en biophysique des acides nucléiques	Structure et dynamique des protéines membranaires	Assemblages biomoléculaires	
18:00	18:00	18:00	18:00
Session conjointe 2	Session 2	Session 6	
18:30	18:30	18:30	18:30
19:00	19:00	19:00	19:00
	19:30	19:30	19:30
Conférence Plénière Frédéric Dardel	Assemblée Générale de la SFB		
20:00	20:00	20:00	20:00
Dîner de Gala	Remise du prix de la SFB et Conférence du Lauréat	Dîner	
	20:30	20:30	20:30
	Dîner		

Bienvenus tous au 21^{ème} Congrès de la Société Française de Biophysique. Cette année, notre Congrès se tient en collaboration avec le groupe « Interactions protéines-acides nucléiques – expression du génome » – dit le groupe Figeac. C'est pour cette raison donc que nous nous retrouvons à Figeac. Ayant déjà participé à un congrès du groupe Figeac, je peux attester de la convivialité du site pour des Congrès. Par ailleurs, notre souci à la SFB est de rassembler autant que possible les différents courants de la Biophysique en France. Ainsi, clôturant le Congrès nous avons conçu une autre session conjointe avec le Groupement de Graphisme et Modélisation Moléculaire, le GGMM.

En lisant le programme qui suit, je pense que vous serez tous d'accord que la Biophysique se porte bien en France, même durant cette période quelque peu compliquée. Je vous conseille vivement de vous laisser inspirer par la science que vous entendrez, de prendre le temps de discuter entre collègues et de rencontrer les jeunes biophysiciens, qui sont l'avenir de notre domaine, en visitant leurs posters et en écoutant leur conférences sélectionnées.

Mercredi le 1^{er} Octobre vers 19h30 vous aurez aussi le plaisir d'écouter la Conférence du Lauréat du Prix du Jeune Chercheur de la SFB. La décision a été particulièrement difficile cette année, avec beaucoup de très bons candidats. Notre lauréat est Manuel Théry, chercheur au CEA de Grenoble, pour ses très jolis travaux en biophysique cellulaire. Juste avant la présentation Manuel Théry, se tiendra à 19h15 une (très courte) Assemblée Générale de la SFB. Je vous demande vivement d'y participer. Nous devons vous soumettre un petit changement de statut avant les élections de novembre et il serait important d'avoir l'avis et l'accord d'une majorité d'entre vous. Il y aura aussi un rapport du trésorier, un rapport sur la Biophysique Européenne (EBSA), ainsi qu'un compte rendu (bref je le promets) sur nos activités depuis la dernière AG à Anglet.

J'espère que vous passerez quelques jours agréables et motivants lors de ce Congrès. Toutes vos suggestions pour des Congrès futurs sont les bienvenues.

Biophysiquement vôtre.

*Catherine Royer
Présidente de la SFB*

Programme

Mardi 30 septembre

14:20 Cérémonie d'ouverture

Nouvelles méthodes, nouvelles approches en biophysique des acides nucléiques

Session conjointe 1

Présidence : Catherine Royer

14:30 La SPR pour analyser les interactions protéines-ARN et ARN-ARN : promesses, réalité et limites

C. Di Primo, E. Dausse, J.-J. Toulmé, S. Fribourg et I. Lebars

15:00 Mécanismes moléculaires de la transcription : apport de la fluorescence de molécules uniques

E. Margeat

15:30 Effet des contre-ions monovalents à concentration physiologique sur la structure et la dynamique des acides nucléiques

J. Abi Ghanem, B. Heddi et B. Hartmann

15:50 Les interactions ADN-protéine élucidées par RMN : Exemple de la protéine structurale MC1 d'*Archaea*

F. Paquet, F. Culard, U. Asseline et G. Lancelot

16:10 Fin de la session conjointe 1

16:11 Pause Café et Séance Poster

Session conjointe 2

Présidence : Lucienne Letellier

17:30 Nouvelle approche en production des ARN et ses applications à la biologie structurale

L. Ponchon et F. Dardel

18:00 Études quantitatives des interactions ADN-protéines pour une biologie de systèmes

A. Olliver, C. Saggioro et B. Scavi

18:30 Aminoglycoside binding to HIV-1 RNA dimerization initiation site: high-resolution structures, thermodynamics and effects of the kissing-loop to duplex transition

S. Freisz, S. Bernacchi, R. Marquet, C. Maechling, P. Dumas et E. Ennifar

18:50 Fin de la session conjointe 2

19:15 Conférence plénière : Frédéric Dardel

20:00 Dîner de Gala

Mercredi 1er octobre

Session conjointe 3

Présidence : *Malcolm Buckle*

- 9:00** Real-time single-molecule approaches to studying DNA-protein interactions
T. Strick
- 9:30** Interplay of mRNA and factors in intermediate states of the initiating protein synthesis machinery
B. Klaholz
- 10:00** Analyse de la cinétique de repliement du riboswitch à vitamine B1 de *E. coli*
D. Burnouf et P. Dumas
- 10:20** **Fin de la session conjointe 3**

Pause Café

Session conjointe 4

Présidence : *Michel Kochoyan*

- 11:00** Le nucléosome dans tous ses états : les succès d'une approche fonctionnelle en modélisation des grands assemblages
M. Barbi, J. Mozziconacci, H. Wong et J.-M. Victor
- 11:30** La Résonance des Plasmons de Surface en imagerie, optimisation de l'interface optique/biologique
C. Nogues, H. Leh et M. Buckle
- 12:00** Une méthode de cartographie des interactions protéine-protéine, par radiolyse
Q. Raffy, G. Mousseau, F. Ochsenein, R. Thai, J.-C. Cintrat, B. Rousseau, J.-P. Renault et S. Pin
- 12:20** **Fin de la session conjointe 4**
- 12:30** **Déjeuner**

Session 1 : Nouvelles approches RMN en biologie

Présidence : *Bruno Kieffer*

- 14:30** Atom-resolved investigation of protein folding and unfolding by multidimensional NMR spectroscopy
B. Brutscher
- 15:00** Étude structurale d'assemblages macromoléculaires de grande taille par résonance magnétique nucléaire
R. Sounier, I. Ayala, P. Gans et J. Boisbouvier
- 15:20** TCL1 oncogenic proteins : more than just co-activators for Akt
V. Ropars, D. Auguin, M. Noguchi, M.-H. Stern, S. Arold et C. Roumestand
- 15:40** Conception de ligands de haute affinité de l'ADN polymérase beta par criblage virtuel et RMN selon une approche par fragment
C. Hazan, F. Boudsocq, V. Gervais, O. Saurel, C. Cazaux, J. Czaplicki et A. Milon
- 16:00** **Fin de la session 1**
- 16:00** **Session poster I**

Session 2 : Structure et dynamique des protéines membranaires

Présidence : Jacqueline Cherfils

- 17:30** Membrane proteins in situ and in crystals
J. Sturgis
- 18:00** Influence des amphiphiles sur les interactions et la cristallisation du complexe photosynthétique RC-LHI de *Rhodobacter Blasticus*
F. Bonneté, P. Preira et C. Jungas
- 18:20** High-resolution AFM in biological research and as a medical nano-imaging tool
S. Mangenot, N. Buzhynskyy et S. Scheuring
- 18:40** Propriétés structurales et fonctionnelles des complexes bactériorhodopsine/Amphipols en solution
Y. Gohon, T. Dahmane, R. Ruigrock, P. Schuck, D. Charvolin, F. Rappaport, P. Timmins, D. Engelman, C. Tribet, J.-L. Popot et C. Ebel
- 19:00** **Fin de la session 2**
- 19:30** **Assemblée Générale de la SFB, Remise du prix de la SFB et Conférence**
- 20:30** **Diner**

Jeudi 2 octobre

Session 3 : Structure et dynamique des protéines solubles

Présidence : Véronique Receveur-Bréchet

- 9:00** Structure, dynamique et inhibition des GTPases Arf et de leurs GEFs
J. Cherfils, J.-C. Zeeh, S. Flisiak, B. Guibert, M. Zeghouf, V. Buosi, A. Thureau, C. van Heijenoort et E. Guittet
- 9:30** Suivre les transitions structurales dans les protéines désordonnées: approche par marquage paramagnétique et spectroscopie RPE
V. Belle, S. Rouger, S. Costanzo, J. Stancar, S. Longhi, A. Fournel et B. Guigliarelli
- 9:50** Étude de la conformation de la PBP1b de *S. pneumoniae* par diffusion des rayons-X en solution
P. Machebœuf, A. Dessen, M. Piuze, F. Bontems, J. Pérez et P. Vachette
- 10:10** La phosphoglycérate kinase: une enzyme du métabolisme de pro-drogues antivirales spécifique et ambidextre
P. Lallemand, L. Chaloin, S. Arold, C. Gondeau, B. Roy, C. Périgaud, T. Barman et C. Lionne
- 10:30** **Fin de la session 3**

Pause Café

Session 4 : Biophysique cellulaire

Présidence : Laurence Salomé

- 11:00** Critical role of a dynamic nanodomain organization at the plasma membrane for efficient cell signaling
F. Conchonaud, A. Sergé, Y. Hamon, X.-J. Guo, N. Bertaux, H. Rigneault, H.-T. He et D. Marguet

- 11:30** Mécanosensibilité de cellules adhérentes
A. Asnacios, M. Balland, N. Desprat, M. Ghibaudo, A. Guiroy, S. Hénon, D. Icard-Arcizet, B. Ladoux, D. Mitrossilis, A. Saez et F. Gallet
- 12:00** FCS diffusion laws in two-phase, two-component lipid bilayers
C. Favard, J. Ehrig, J. Wenger, P. F. Lenne et H. Rigneault
- 12:20** Comparaison entre le Modèle de Potts Cellulaire et la morphologie de cellules adhérentes sur supports microstructurés
B. Vianay, J. Käfer, E. Planus, M. Block, F. Graner et H. Guillou
- 12:40** **Fin de la session 4**
- 13:00** **Déjeuner**
- Session 5 : Bioénergétique**
Présidence : Bruno Robert
- 14:30** Singlet oxygen production in photosystem II and its role in signalling
A. Krieger-Liszkay, B. Fischer et E. Hideg
- 15:00** Imagerie de fluorescence appliquée à l'étude *in vivo* de l'activité photosynthétique
J. Alric, X. Johnson, G. Vandystadt, D. Beal, R. Dubois et P. Roussel
- 15:20** Métabolisme énergétique d'une bactérie hyperthermophile : Organisation en supercomplexes des voies respiratoires
M. Guiral, P. Infossi, L. Prunetti, M.-C. Giuliani et M.-T. Giudici-Ortoni
- 15:40** **Fin de la session 5**
- 16:00** **Session poster II**
- Session 6 : Assemblages biomoléculaires**
Présidence : Martin Weik
- 17:30** Structure tridimensionnelle des adénovirus
G. Schoehn, P. Fender, E. Kremer, C. Fabry, S. Cusack et R. Ruigrok
- 18:00** Nanomanipulation de fibres individuelles de chromatine par pinces magnétiques
A. Bancaud, G. Wagner, N. Conde e Silva, P. Recouvreux, C. Lavelle, J. Mozziconacci, H. Wong, M. Barbi, E. Le Cam, J.-M. Victor et J.-L. Viovy
- 18:20** Supported biomimetic membrane designed for the investigation of a bacterial toxin translocation
C. Rossi, C. Lazzarelli, D. Ladant et J. Chopineau
- 18:40** Assemblage des capsides du bactériophage T5
A. Huet, J. Conway, Z. Haj Slimane, P. Decottignies, L. Letellier et P. Boulanger
- 19:00** **Fin de la session 6**
- 20:00** **Dîner**

Vendredi 3 octobre

G.G.M.M. – Dynamique et modélisation — Session 1

Présidence : Catherine Etchebest

- 9:00** Interactions protéine-glucides - structure, thermodynamique et modélisation
A. Imberty
- 9:30** Nouveaux outils pour le calcul objectif de structures RMN et pour une annotation fonctionnelle correcte des protéines : le cas de la coordination du Zinc
A. Bernard, B. Bardiaux, M. Sattler et M. Nilges
- 9:50** “Restrained” molecular dynamics simulations: a helpful tool in docking protocols
S. Bourg, D. Genest, N. Garnier, M. Genest, C. Marot et L. Morin-Allory
- 10:10** Modélisation à l’échelle atomique de la flexibilité biomoléculaire par la méthode des Modes Statiques
M. Brut, G. Renvez, A. Estève, M. Djafari Rouhani et G. Landa
- 10:30** **Fin de la session 1**

G.G.M.M. – Dynamique et modélisation — Session 2

Présidence : Anne Imberty

- 10:30** Elastine : structure/fonction/dynamique
N. Belloy, N. Floquet, S. Baud, P. Derreumaux, L. Duca, L. Debelle, L. Martiny et M. Dauchez
- 11:00** Insights into dynamic character of *Burkholderia cepacia* lipase by molecular modelling and robotic-based path planning approaches
S. Barbe, V. Lafaquière, D. Guieysse, J. Cortés, P. Monsan, T. Siméon, M. Remaud-Siméon et I. André
- 11:20** Structural dynamics of RXR ligand-binding domain: a MD study
G. Marchetti et A. Dejaegere
- 11:40** A combination of rigid and flexible docking for elucidating complexes involving DARC interceptor, a multispecific seven-transmembrane helices receptor
L. Autin, A. de Brevern et C. Etchebest
- 12:00** **Fin de la session 2**
- 12:00** **Déjeuner - Départ**

**– Nouvelles méthodes, nouvelles approches en
biophysique des acides nucléiques - 1 –**

La SPR pour analyser les interactions protéines-ARN et ARN-ARN : promesses, réalité et limites

C. Di Primo¹, E. Dausse¹, J.-J. Toulmé¹, S. Fribourg^{1, 2} et I. Lebars³

¹Institut Européen de Chimie et Biologie/INSERM U869, 2 rue Escapit, 33607 Pessac, ²Laboratoire de cristallographie des protéines, ³CNRS-Université de Bordeaux 1-ENITAB, UMR 5248 CBMN, Institut Européen de Chimie et Biologie, Pessac

Avec l'apparition du premier instrument commercial, le milieu des années 90 a constitué un tournant dans l'utilisation de la résonance plasmonique de surface (SPR) pour l'analyse des interactions impliquant les macromolécules biologiques. Longtemps cantonnée à la caractérisation de réactions mettant en jeu des partenaires protéiques, la SPR est aujourd'hui reconnue comme une méthodologie dont l'apport est indéniable dans le monde de l'ARN superstar et des acides nucléiques. Plusieurs exemples nous permettront d'illustrer le champ d'application de cet outil.

Dans la sélection *in vitro* d'aptamères contre des cibles ARN, la SPR est d'abord un outil qui permet de suivre l'évolution de la sélection. Lorsque des aptamères sont identifiés, l'analyse en temps réel de l'interaction entre la cible et les meilleurs candidats sélectionnés permet d'optimiser les propriétés de ces ligands de haute affinité. Une analyse cinétique plus fine associée à une étude structurale par résonance magnétique nucléaire ou par diffraction des rayons X permet à l'échelle atomique de révéler les déterminants structuraux clés pour une interaction stable. Les travaux autour d'un aptamère ARN sélectionné contre l'élément TAR du VIH-1 illustreront ces différents aspects.

Nous montrerons enfin comment la SPR permet d'analyser un complexe modèle issu d'un plasmide d'*E. coli* constitué de deux tige-boucles ARN formant un complexe boucle-boucle reconnu par une protéine dimérique stabilisatrice, difficilement caractérisable, par exemple, par mobilité électrophorétique retardée sur gel d'acrylamide natif.

Mécanismes moléculaires de la transcription : apport de la fluorescence de molécules uniques

E. Margeat

Centre de Biochimie Structurale - UMR 5048 CNRS - Unité 554 INSERM - Universités Montpellier I & II

L'initiation et la terminaison de la transcription par l'ARN polymérase sont des processus hautement dynamiques, et comportant un grand nombre d'intermédiaires réactionnels difficilement accessibles aux méthodes de biologie structurale ou de biochimie classique. Les techniques de molécules uniques sont en revanche parfaitement adaptées pour étudier ce type de problème. La technique de FRET (Förster Resonance Energy Transfer) par excitation laser alternée (ALEX) permet de mesurer de façon très précise les distances ou les changements de distance entre 2 ou 3 fluorophores placés spécifiquement sur des complexes macromoléculaires uniques. Quelques exemples d'application de cette technique à l'étude de l'initiation abortive, la terminaison intrinsèque, ou la terminaison Rho-dépendante seront présentés.

Effet des contre-ions monovalents à concentration physiologique sur la structure et la dynamique des acides nucléiques

J. Abi Ghanem^{1,2}, B. Heddi¹ et B. Hartmann^{1,2}

¹Laboratoire de Biochimie Théorique, CNRS UPR 9080, IBPC, 13 rue Pierre et Marie Curie, 75005 Paris, ²Equipe de Bioinformatique Génomique et Moléculaire, Unité Inserm S726, INTS, 6 rue Alexandre Cabanel, 75015 Paris

Une problématique majeure en biologie structurale est l'influence du milieu sur l'ADN. L'ADN est une molécule fortement chargée négativement, et l'existence même de la double hélice dépend de la présence de cations. En plus de ce rôle d'écrantage, les cations monovalents à concentration physiologique agissent sur la structure et la dynamique de l'ADN. Cet effet, qui est longtemps resté une question ouverte, vient d'être démontré par RMN. D'après ces expériences, les mouvements des groupements phosphate et certains paramètres de la double hélice comme la courbure et l'enroulement apparaissent significativement dépendant du type d'ion utilisé, en particulier autour des guanines.

Notre but consiste à élucider ces observations expérimentales en utilisant la modélisation moléculaire. Nous avons d'abord montré que les atomes N7 et O6 de la guanine, très électronégatifs et largement accessibles dans le grand sillon, sont bien des cibles préférentielles pour un ion Na⁺. En contraignant ensuite un ion Na⁺ à parcourir les deux sillons de l'ADN, nous avons établi que dans certains secteurs du grand sillon, l'ion était en position de générer des interactions électrostatiques à moyenne portée avec des atomes appartenant aux bases (N7, O6) et au brin phosphodiester (O5', O3'). Ainsi positionné, l'ion module localement la dynamique de la double hélice *via* les mouvements des groupements phosphates. Ces résultats nous permettent d'expliquer au niveau atomique l'effet des ions sur les acides nucléiques tel qu'il a été vu en RMN, et qui doit être pris en compte pour mieux comprendre les relations structure/fonction de ces molécules.

Les interactions ADN-protéine élucidées par RMN : Exemple de la protéine structurale MC1 d'*Archaea*

F. Paquet, F. Culard, U. Asseline et G. Lancelot

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

La protéine MC1 est présente dans différentes *Archaea* du genre *Methanosarcina*. C'est une petite protéine basique (11 kDa), abondante, pouvant induire des courbures de l'ADN et pouvant également compacter l'ADN circulaire (Teyssier C. et al, *Biochemistry* 1996, **35**, 7954).

La structure tridimensionnelle de MC1 a été réalisée par ¹H-RMN sur la protéine extraite de la souche CHTI 55 (Paquet F. et al, *Biochemistry* 2004, **43**, 17971). Elle est composée d'une hélice- α , de 5 feuillets- β et d'une grande boucle flexible. La structure a été affinée sur la protéine marquée ¹³C, ¹⁵N grâce à des contraintes supplémentaires et des RDC. Le complexe a été préparé avec la protéine ¹⁵N-MC1 et un oligonucléotide de 15 paires de bases choisi pour sa forte affinité (K_D=2nM) (De Vuyst G. et al, *Biochemistry* 2005, **44**, 10369).

L'utilisation de sondes paramagnétiques a permis de déterminer la polarité du complexe en démontrant la proximité des résidus 64-84 de la boucle avec le tract de guanines. La variation de déplacement chimique ¹H et ¹⁵N des NH peptidiques a montré que certains résidus de la boucle, de l'hélice- α et du feuillet- β 4 sont impliqués dans l'interaction ADN-protéine. Les NOEs transférés à partir des protons imino de l'ADN vers la protéine ont permis de préciser que la région centrale de l'ADN se trouve à proximité de S36 et R46. Enfin des NOEs intermoléculaires détectés sur les spectres NOESY avec ou sans demi filtre ont permis de déterminer les résidus en contact avec l'ADN (W74, P72 etc.). L'utilisation de toutes ces contraintes dans le programme HADDOCK a permis d'obtenir une structure du complexe. Les régions impliquées dans les interactions sont en accord avec les résultats obtenus avec les sondes chimiques (De Vuyst G. et al, *Biochemistry* 2005, **44**, 10369).

**– Nouvelles méthodes, nouvelles approches en
biophysique des acides nucléiques - 2 –**

Nouvelle approche en production des ARN et ses applications à la biologie structurale

L. Ponchon et F. Dardel

Laboratoire de Cristallographie et de RMN Biologique, CNRS UMR-8015, Université Paris Descartes - Faculté de pharmacie, 4 avenue de l'observatoire, 75270 PARIS

Aquifex aeolicus est une bactérie hyperthermophile qui nécessite pour sa croissance la présence d'un mélange H₂ / CO₂ / O₂ et d'un composé sulfuré. Elle utilise l'hydrogène moléculaire comme source d'énergie et l'oxygène moléculaire comme accepteur terminal d'électrons. Elle possède trois hydrogénases à [NiFe], deux sont membranaires périplasmiques, la troisième étant soluble dans le cytoplasme.

Après avoir mis en évidence une croissance sur Soufre, nous avons purifié et caractérisé un supercomplexe soufre réductase-hydrogénase membranaire, couplant l'oxydation périplasmique de l'hydrogène à la réduction cytoplasmique du soufre élémentaire. Cette superstructure contient l'hydrogénase II membranaire et une soufre réductase composée de 3 sous unités et présentant différents clusters Fe-S et un cofacteur à molybdène. L'implication d'une quinone dans le transfert électronique au sein du complexe a également été démontrée. Cette nouvelle quinone a été purifiée et sa structure 3D résolue. C'est la première quinone d'hyperthermophiles à avoir été ainsi caractérisée. Nous avons recherché le rôle que ce complexe pourrait jouer dans la cellule et quels sont ses partenaires physiologiques. Le rôle des lipides dans la stabilisation et la fonctionnalité des protéines membranaires d'*Aquifex aeolicus* a été abordé par des expériences de reconstitution dans les liposomes.

Études quantitatives des interactions ADN-protéines pour une biologie de systèmes

A. Olliver, C. Saggiaro et B. Sclavi

UMR 8113, LBPA, Ecole Normale Supérieure de Cachan, Cachan, France

High throughput transcriptomic and proteomic techniques result in a large amount of data that can be helpful in the identification of the genes and proteins present in a specific cellular regulatory network. In order to describe the dynamics of this network, however, we often need to obtain a more detailed quantitative description of these macromolecular interactions, using both *in vitro* and *in vivo* measurements, in order to describe their temporal evolution as a response to different growth conditions or cellular stresses and the subsequent phenotypic outcome. These results can then be used to construct predictive mathematical models of the cellular processes being studied. Recent developments, especially in the automation of data acquisition and analysis, allow for a more efficient quantitative characterization of the large number of macromolecular interactions present in cellular regulatory networks. We have begun to apply such an experimental approach to the study of the transcriptional network of the proteins regulating the process of DNA replication in *E. coli*.

Aminoglycoside binding to HIV-1 RNA dimerization initiation site: high-resolution structures, thermodynamics and effects of the kissing-loop to duplex transition

S. Freisz¹, S. Bernacchi¹, R. Marquet¹, C. Maechling², P. Dumas¹ et E. Ennifar¹

¹Architecture et Réactivité de l'ARN, UPR 9002 CNRS, Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire, 15 rue René Descartes, 67084 Strasbourg, France, ²UMR 7175-CNRS, Université Louis Pasteur, Faculté de Pharmacie, 74, Route du Rhin, 67401 Illkirch cedex, France

HIV-1 Dimerization Initiation Site (DIS) is a conserved stem-loop in the 5' non-coding region of the genomic RNA. Alteration of the DIS affects RNA dimerization, packaging and reverse transcription, and reduces viral infectivity. The DIS loop contains a self-complementary sequence that promotes genome dimerization by forming a kissing-loop complex. This complex is stabilized into an extended duplex form by the viral NCp7 nucleocapsid protein. We have previously shown that aminoglycoside antibiotics can specifically bind the DIS kissing-loop. X-ray structures of the HIV-1 DIS kissing-loop bound to aminoglycosides were solved, revealing some significant differences compared to equivalent ribosomal A site/aminoglycoside complexes.

Using various biophysical techniques (fluorescence, ITC microcalorimetry, UV and NMR spectroscopies) we characterized the HIV-1 DIS/aminoglycoside antibiotics interactions. We have shown that the affinity of aminoglycosides for the HIV-1 DIS RNA was significantly higher than for their natural target (the ribosomal A site) and that the drug induces a strong stabilization of the RNA loop-loop complex, blocking its conversion into the duplex form. We have also identified that apramycin, an aminoglycoside having a unique chemical structure with a bicycling ring, can also specifically bind the HIV-1 DIS kissing-loop dimer, but in a different way than the neomycin family. In addition, high-resolution structures of the duplex form of the HIV-1 DIS bound to various aminoglycoside antibiotics revealed differences in the drug/RNA recognition compared to previous aminoglycoside/DIS kissing-loop structures. These structures also show that it is possible to target the HIV-1 DIS dimer before and after the NCp7-assisted RNA maturation with the same molecule.

**– Nouvelles méthodes, nouvelles approches en
biophysique des acides nucléiques - 3 –**

Interplay of mRNA and factors in intermediate states of the initiating protein synthesis machinery

B. Klaholz

Department of Structural Biology and Genomics, Institute of Genetics and of Molecular and Cellular Biology (IGBMC), Illkirch, France.

The transient character of complexes formed by the ribosome machinery represents a major challenge for the reconstitution and detailed study of intermediate states, particularly for the translation initiation phase which is a key step for translation regulation. In bacteria, it involves the formation of (pre-) initiation complexes of the ribosomal 30S subunit with mRNA and initiator tRNA with the help of initiation factors IF1, IF2 and IF3. The joining of the 50S subunit leads to the assembly of the 70S ribosome initiation complex (70SIC). By using a combination of biochemistry, cryo-electron microscopy, 3D reconstruction, crystallography and bio-informatics we are addressing the mechanism by which mRNA and initiation factors regulate the ribosome activity. Several structures will be presented, starting from the pre-initiation complex with a folded mRNA that transiently stalls the ribosome (Marzi *et al.*, 2007), the assembled 30SIC and GTP-transient states of the 70SIC (Myasnikov *et al.*, 2005). Structure and sequence analysis suggests the existence of a conserved mRNA binding site on the small ribosomal subunit (Marzi *et al.*, 2007). Using multi-state particle sorting procedures through image processing, we have been able to determine the structure of the highly flexible 30S complex, providing insights into the mechanism of tRNA stabilisation and subunit joining (Simonetti *et al.*, 2008).

A. G. Myasnikov, S. Marzi, A. Simonetti, A. M. Giuliadori, C. O. Gualerzi, G. Yusupova, M. Yusupov, B. P. Klaholz. Conformational transition of initiation factor 2 from the GTP- to GDP-bound state visualized on the ribosome. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **2005**, *12*, 1145-1149.

S. Marzi, A. G. Myasnikov, A. Serganov, C. Ehresmann, P. Romby, M. Yusupov & B. P. Klaholz. Structured mRNAs regulate translation initiation by binding to the platform of the ribosome. *Cell*, **2007**, *130*, 1019-103

A. Simonetti, S. Marzi, A. G. Myasnikov, A. Fabbretti, G. Yusupova, M. Yusupov, C. O. Gualerzi, B. P. Klaholz. Structure of the 30S translation initiation complex. *Nature*, *in press*.

Analyse de la cinétique de repliement du riboswitch à vitamine B1 de *E. coli*

D. Burnouf et P. Dumas

Architecture et Réactivité de l'ARN, UPR 9002 du CNRS, IBMC, 15 rue Descartes, 67084, Strasbourg cedex

Les «*riboswitches*» sont des ARN régulateurs retrouvés chez les procaryotes et les eucaryotes principalement dans les régions 5'UTR de certains ARN messagers. Cette régulation s'effectue grâce à un changement de conformation résultant de la liaison d'un ligand spécifique (purine, vitamine, acides aminés, ...), voire pour les bactéries suite à un simple changement de température (ARN thermosenseur). Quelqu'en soit la cause, le changement de conformation peut conduire, selon les cas, aussi bien à l'activation qu'à la répression de la transcription comme de la traduction du gène, le processus de répression pouvant être la dégradation de l'ARNm. Nous nous sommes intéressés au riboswitch de la vitamine B1 de *E. coli* dont la structure cristallographique est connue (2CKY) et dont la dynamique de repliement a déjà été étudiée par remplacement ponctuel d'adénines par des 2-aminopurines fluorescentes [Lang *et al.*, NAR **35** (2007) 5370]. Notre approche, reposant sur la production de radicaux libres OH[•] par la réaction de Fenton, est plus globale. Elle permet en effet d'analyser l'évolution de la protection ou de l'exposition aux radicaux suite à l'addition du ligand **pour chaque position de l'ARN**, et non pas pour quelques unes. Une intéressante comparaison des deux méthodes peut donc être faite. L'analyse des résultats a nécessité un développement spécifique qui sera exposé. Ce travail réalisé avec des appareillages classiques (KinTek) rentre en fait dans un cadre plus large visant à développer les méthodes microfluidiques pour l'étude cinétique complexe du repliement d'ARN au cours même de leur transcription. Cette stratégie nouvelle sera aussi exposée.

**– Nouvelles méthodes, nouvelles approches en
biophysique des acides nucléiques - 4 –**

Le nucléosome dans tous ses états : les succès d'une approche fonctionnelle en modélisation des grands assemblages

M. Barbi, J. Mozziconacci, H. Wong et J.-M. Victor

Laboratoire de physique théorique de la matière condensée, CNRS UMR 7600, Université Pierre et Marie Curie, Paris

Le nucléosome est le motif structural élémentaire du chromosome eucaryote. Il est constitué par l'enroulement de ~ 147 paires de bases d'ADN (~ 1 tour $\frac{3}{4}$) autour d'un coeur de 8 protéines histones. Les structures cristallographiques – et tout particulièrement celle publiée en 1997 par Luger et coll (« Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution », *Nature* 389, 251-60) – ont popularisé l'image d'un nucléosome rigide, semblable à une « boîte de thon », dans laquelle les 8 histones de coeur sont confinées.

Cette image est bousculée par diverses observations, dont certaines remontent aux premiers temps de la caractérisation du nucléosome (voir l'excellente revue de C. Lavelle et A. Prunell: « Chromatin polymorphism and the nucleosome superfamily: a genealogy », *Cell Cycle*. 2007, 6(17), 2113-9).

Des arguments fonctionnels en faveur d'un polymorphisme structural du nucléosome ont été avancés (voir par exemple J. Mozziconacci et coll, « A physical model for the condensation and decondensation of eukaryotic chromosomes », *FEBS Letters* 2006, 580(2), 368-72); mais il est surtout devenu possible de sonder directement la rigidité mécanique du nucléosome grâce aux micromanipulations de fibre de chromatine. La transition conformationnelle la plus spectaculaire est sans conteste celle qui a été observée sous pinces magnétiques quand une très forte torsion positive est appliquée (A. Bancaud et coll, « Nucleosome chiral transition under positive torsional stress in single chromatin fibers », *Mol Cell*. 2007, 27(1), 135-47). L'analyse détaillée des courbes rotation-extension montre qu'il y a inversion de la chiralité de l'enroulement de l'ADN autour du coeur de protéines avec conservation globale des huit histones.

La modélisation de cette transition et la particule métastable qui en résulte, baptisée « reversome », a été menée à l'aide des outils les plus avancés de l'animation 3D. La fonction *in vivo* du reversome sera discutée dans le contexte de l'élongation de la transcription.

La Résonance des Plasmons de Surface en imagerie, optimisation de l'interface optique/biologique

C. Nogues, H. Leh et M. Buckle

LBPA, ENS Cachan

La Résonance des Plasmons de Surface (*Surface Plasmon Resonance, SPR*) est une technique simple et efficace pour étudier la reconnaissance de molécules biologiques. Elle permet de mesurer les constantes cinétiques d'association et de dissociation d'un complexe bio moléculaire particulier en temps réel. Les développements récents de l'imagerie SPR (SPRi) permettent d'analyser simultanément des interactions entre des récepteurs déposés en microarrays sur la surface de la biopuce et une cible présente en solution.

Afin de caractériser exclusivement les interactions spécifiques entre molécules biologiques, il est primordial de protéger la surface contre les interactions non spécifiques.

Nous avons développé une chimie de surface basée sur la chimie de l'éthylène glycol, inerte à la plupart des interactions avec des molécules biologiques. Notre approche consiste à prétraiter la surface métallique de la biopuce par l'adsorption d'une monocouche autoassemblée peu dense mais efficace contre les interactions non-spécifiques. Les différents récepteurs sont déposés en microarrays sur la surface prétraitée. Ainsi, la surface autour (référence) et dans les spots définis par le microarray, est strictement identique ce qui permet d'optimiser le rapport signal/bruit.

Nous démontrerons par des exemples précis que des données quantitatives ont pu ainsi être extraites sur des systèmes biologiques jusqu'alors impossible à caractériser par ces techniques dues aux nombreuses interactions non spécifiques.

Une méthode de cartographie des interactions protéine-protéine, par radiolyse

Q. Raffy², G. Mousseau¹, F. Ochsenbein¹, R. Thai¹, J.-C. Cintrat¹, B. Rousseau¹, J.-P. Renault² et S. Pin²

¹DSV / iBiTec-S, CEA / Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette Cedex, ²DSM / IRAMIS, CEA / Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette Cedex

Nous développons une méthode de footprinting utilisant les radicaux hydroxyles issus de la radiolyse de l'eau pour permettre un marquage radioactif des protéines.

Les protéines isolées et le complexe protéine-protéine en solution sont soumis séparément à des irradiations, qui induisent la formation de radicaux OH· par radiolyse de l'eau. Seuls les OH· générés à proximité immédiate de la protéine réagissent pour former des radicaux carbo-centrés sur les résidus accessibles au solvant. Ceux-ci sont ensuite réparés par réaction avec une molécule tritiée, le tritium jouant le rôle d'étiquette radioactive permettant d'identifier facilement les radicaux formés. Lorsque le complexe protéine-protéine est formé, la zone d'interaction étant moins accessible au solvant, celle-ci incorpore moins de tritium, ce qui permet son identification par comparaison avec le marquage des partenaires isolés. (Mousseau *et al.*, *Anal. Chem.* **2007**, 79, p. 5444.).

Après avoir testé le marquage sur des acides aminés isolés et des peptides, nous l'avons appliqué à l'étude d'un complexe protéine-peptide. Les premières expériences ont été menées sur le complexe que forme la protéine chaperon d'histone hAsf1₁₁₅₆ avec un fragment de l'histone H3, dont la structure a été obtenue par diffraction des rayons X et par RMN. Les résultats obtenus par marquage au tritium indiquent que trois résidus du fragment de H3 sont principalement impliqués dans l'interaction (L₁₂₆, R₁₂₉ et I₁₃₀), en accord avec les structures décrites. Afin de valider complètement cette méthode, nous cherchons maintenant à caractériser les résidus de hAsf1 impliqués dans l'interaction avec le fragment de H3, qui seront comparés aux structures obtenues par cristallographie et RMN du complexe.

– Nouvelles approches RMN en biologie –

Atom-resolved investigation of protein folding and unfolding by multidimensional NMR spectroscopy

B. Brutscher

Institut de Biologie Structurale Jean-Pierre Ebel, 41 rue Jules Horowitz, F-38027 Grenoble; CEA; CNRS; Université Joseph Fourier; France

Multidimensional NMR spectroscopy is a well-established technique for the characterization of the structure and fast-time-scale dynamics of highly populated ground states of biological macromolecules. The investigation of short-lived excited states, however, that are important for molecular folding, misfolding, and function remains a challenge for modern biomolecular NMR techniques.

Off-equilibrium real-time NMR methods allow direct observation of changes in protein structure and dynamics along a kinetic time coordinate. However, standard multidimensional NMR methods required to yield sufficient atom-resolution are intrinsically time-consuming which excludes many interesting phenomena from real-time analysis.

Here we present recent methodological progress on fast and ultrafast acquisition schemes allowing the recording of 2D correlation spectra with repetition rates up to a few s^{-1} . In combination with a fast-mixing device, this allows real-time studies of protein kinetics occurring on time scales down to a few seconds.

Applications will be shown to the investigation of real-time transitions of proteins from an unfolded or molten-globule state to the native conformation. The 2-dimensional spectral resolution allows the identification of intermediate species, and thus provides important information on protein folding pathways, kinetics, and eventually structural features of the excited states.

Étude structurale d'assemblages macromoléculaires de grande taille par résonance magnétique nucléaire

R. Sounier, I. Ayala, P. Gans et J. Boisbouvier

Institut de Biologie Structurale; Université Joseph Fourier, CEA, CNRS ; 41 rue Jules Horowitz, F-38027 Grenoble cedex 1, France

Les méthodes standard pour la détermination de structure des macromolécules biologiques par RMN reposent principalement sur la détection d'effet Overhauser nucléaire entre deux protons séparés par moins de 6 Å. Nous avons développé une nouvelle stratégie permettant d'obtenir de nouvelles informations structurales entre protons très éloignés dans des protéines (Sounier et al., JACS 2007).

Notre approche repose sur la protonation spécifique : les protéines produites sont uniformément deutérées (> 98 %) sur tous les sites hydrogénés et protonées spécifiquement sur quelques méthyles (> 99 %) (Ayala et al., 2008). La combinaison de ce type d'échantillons à des expériences RMN optimisées, permet de détecter des informations angulaires et de distances entre des méthyles séparés par des distances allant jusqu'à 15 Å (Sounier et al., 2008a). Cette amélioration correspond à la détection d'effets de deux ordres de magnitude plus faible que ceux observés par les méthodes standard.

Nous avons démontré que ces contraintes de distances pouvaient se transposer à des systèmes de plus de 500 kDa (Sounier et al., 2008b). Nos résultats démontrent que cette nouvelle stratégie permet d'extraire des contraintes à longue portée entre protons dans les protéines avec une précision inégalée. Cette approche a été appliquée à la malate synthase G, une protéine modulaire de 82 kDa. L'introduction de quelques contraintes précises à longue portée améliore considérablement la précision et l'exactitude des modèles structuraux. Cette nouvelle méthode sera particulièrement utile pour les protéines allongées, et les assemblages macromoléculaires de grande taille.

TCL1 oncogenic proteins : more than just co-activators for Akt

V. Ropars¹, D. Auguin¹, M. Noguchi², M.-H. Stern³, S. Arold¹ et C. Roumestand¹

¹Centre de Biochimie Structurale, Faculté de Pharmacie, Montpellier France, ²Division of Cancer Biology, Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University, Japan, ³INSERM U509, Institut Curie, Paris, France

TCL1 is an oncogenic protein that was found first to function as an Akt kinase co-activator. Akt plays a central role in the regulation of cellular antiapoptosis and, thus, is a core intra-cellular survival factor underlying various human neoplastic diseases. TCL1 co-activates Akt by binding to its pleckstrin homology domain (PHD). We combined NMR methods and small angle X-ray scattering to determine the affinities, molecular interfaces and low resolution structure of the complex formed between Akt-PHD and TCL1. Moreover, we observed that the affinity of Akt-PHD for MTCP1, a member of the TCL1 family, is significantly lower (two orders of magnitude) than for TCL1. MTCP1 is involved in similar diseases as TCL1, and its intracellular concentrations in neoplastic tissues are comparable. But, contrary to TCL1, MTCP1 is monomeric in solution. We used site-directed mutagenesis on MTCP1 to identify the critical residues that can restore the full binding affinity for Akt, with the aim of obtaining a high resolution NMR structure of the Akt-PHD:MTCP1 complex. Finally, we have looked for others potential targets for TCL1 proteins. We found that TCL1 binds to I κ B α , the inhibitor of NF κ B, a transcription factor that activity of which is downstream regulated by Akt, with an affinity comparable to that of Akt when measured using ITC. Again, the affinity of I κ B α for MTCP1 is significantly lower than for TCL1. We will discuss a low-resolution model of the complex between TCL1 and I κ B α built using SAXS data.

Conception de ligands de haute affinité de l'ADN polymérase beta par criblage virtuel et RMN selon une approche par fragment

C. Hazan¹, F. Boudsocq², V. Gervais¹, O. Saurel¹, C. Cazaux¹, J. Czaplicki¹ et A. Milon¹

¹Université de Toulouse, UPS ; Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale IPBS/CNRS UMR 5089, 205 route de Narbonne, 31077 Toulouse cedex, ²Université de Toulouse, UPS, Laboratoire de Biologie Moléculaire des Eucaryotes LBME/CNRS UMR 5099, 118 route de Narbonne, 31077 Toulouse cedex

L'ADN polymérase beta (pol beta) est une cible pharmacologique de la progression tumorale et de la résistance aux traitements anti-tumoraux, puisqu'elle permet la tolérance des lésions qu'ils induisent, et de certaines maladies neuro-dégénératives. Plusieurs inhibiteurs de pol beta ont déjà été identifiés, mais leur affinité est insuffisante pour un développement pharmacologique.

L'approche par fragment permet de concevoir des molécules de haute affinité, en liant de façon covalente deux fragments d'affinité moyenne pour pol beta, se fixant dans deux sites disjoints mais proches. Le premier fragment, l'acide pamoïque, est issu de la littérature. La caractérisation structurale de son interaction avec pol beta a permis de déterminer deux sites adjacents au site de fixation de l'acide pamoïque.

Un criblage virtuel par le logiciel FlexX de 28714 fragments issus de la base de molécules commerciales ZINC sur l'un de ces deux sites a été utilisé comme filtre en amont d'un criblage expérimental par RMN, avec notamment des expériences de différence de transfert de saturation et de cartographie de déplacements chimiques. En effet, la RMN permet le criblage de molécules d'affinité moyenne et apporte l'information structurale requise pour lier les fragments d'une façon qui respecte leur positionnement individuel sur la cible. A l'issue de ces deux étapes, 4 fragments ont été retenus pour concevoir 4 molécules hybrides acide pamoïque-linker-fragment. Des tests de répllication in vitro d'un oligonucléotide porteur d'une amorce nucléique par pol beta ont montré que deux des molécules synthétisées avaient une activité inhibitrice significativement meilleure que l'acide pamoïque. Ces molécules sont donc des points de départ pour un nouveau cycle d'optimisation structurale et fonctionnelle.

**– Structure et dynamique des protéines
membranaires –**

Membrane proteins in situ and in crystals

J. Sturgis

LISM UPR 9027 CNRS, and University Aix-Marseille 2, Marseille

With recent progress in imaging, and in particular AFM, it is possible to visualise membrane proteins in situ at molecular and sub-molecular resolution, while at the same time progress in membrane protein purification and crystallisation is resulting in an increasing number of crystallographic membrane protein structures.

I will examine the concordance and discordance between these different visions of membrane proteins. In particular I will revisit the question of the accuracy of protein structures obtained in a non-native environment, with particular attention to membrane proteins. I will discuss the extent to which we can learn from the in-situ organisation of membrane protein how to aid crystallisation, and finally will examine ways of integrating crystallography and imaging to construct large models of biological membranes at atomic resolution. Through these different considerations I hope to show the complementarity between imaging native membranes and determining the atomic resolution structure of these proteins. In particular I want to show that structure without environment is hard to interpret, and that native membrane images without structure are equally hard to interpret.

Influence des amphiphiles sur les interactions et la cristallisation du complexe photosynthétique RC-LH1 de *Rhodobacter Blasticus*

F. Bonneté¹, P. Preira¹ et C. Jungas²

¹CINaM CNRS UPR 3118 campus de Luminy, case 913, 13288 Marseille cedex 9, ²UMR 6191, LBC, IBEB CEA Cadarache, 13115 Saint-Paul-lez-Durance

L'étude des protéines membranaires représente un déficit majeur de la biologie structurale. A ce jour, seule une centaine de structures protéiques membranaires a été résolue parmi les plus naturellement abondantes. En effet, la résolution structurale de ces protéines à l'échelle atomique se heurte à une cristallisation plus compliquée que celle des protéines solubles. Les protéines membranaires sont des systèmes non solubles dans les solutions habituellement utilisées pour les protéines solubles, et nécessitent l'emploi de détergents pour leur solubilisation, leur purification et leur manipulation. De plus, les structures résolues par diffraction des rayons X de certaines protéines membranaires montrent que des lipides endogènes peuvent rester liés à la protéine lors de la solubilisation. Si aucune rationalité n'a été décrite concernant l'utilisation des détergents dans les solutions de cristallisation, le rôle des lipides liés n'a pas non plus été éclairci.

Notre projet vise à étudier le rôle des amphiphiles sur l'association et la cristallisation des protéines membranaires en prenant comme modèle, le complexe photosynthétique RC-LH1-pufX de *Rhodobacter blasticus*. Nous avons abordé la cristallisation par l'étude des forces d'interaction entre complexes membranaires et micelles de détergents en utilisant des techniques de diffusion des rayonnements. Cette approche déjà utilisée avec succès avec les protéines solubles permet de mieux caractériser les diagrammes de phases nécessaires au contrôle de la croissance cristalline et à l'amélioration des cristaux.

Nous avons également caractérisé les lipides endogènes liés au complexe à différents taux de DDM lors de la solubilisation. Il semble en effet, qu'un excès ou un déficit de lipides constituerait une entrave entre les différents contacts hydrophobes nécessaires à l'obtention de cristaux de très bonne qualité. Pour les complexes RC-LH1-pufX, cette étude pourrait par ailleurs nous permettre d'améliorer la résolution des cristaux déjà obtenus (8-10 Å) et proposer ainsi une structure à haute résolution.

High-resolution AFM in biological research and as a medical nano-imaging tool

S. Mangelot^{1, 2}, N. Buzhynskyy² et S. Scheuring²

¹Université Paris-Sud, 15 Rue Georges Clémenceau, 91405 Orsay cedex, France, ²Institut Curie, Equipe INSERM Avenir, UMR168-CNRS, 26 Rue d'Ulm, 75248 Paris Cedex 05, France.

The atomic force microscope (AFM) has become a powerful tool in structural biology allowing the investigation of biological samples under native-like conditions: experiments are performed in physiological buffer at room temperature and under normal pressure. Topographies of membrane proteins can be acquired at a lateral resolution of $\sim 10\text{\AA}$ and a vertical resolution of $\sim 1\text{\AA}$. Importantly, the AFM features an extraordinary signal-to-noise ratio allowing imaging of individual membrane proteins in prokaryotic and eukaryotic native membranes that participate in supramolecular assemblies.

Imaging techniques in medicine are important for our understanding of pathologies and potential development of cure approaches. It is now clear that many pathologies are based on molecular disorders. Therefore techniques capable to image at a resolution sufficient to observe single molecules and better must be developed and adapted for medical issues. Membrane proteins are involved in many vital processes and their malfunctions often have a serious impact on an organisms state. Nowadays, AFM is a recognized technique able to reveal the structure of supramolecular assemblies of membrane proteins. Using AFM as a medical nano-imaging tool, we imaged healthy and cataract affected eye lens membranes at unprecedented resolution. Crucial differences in organization of the two membrane proteins, aquaporin-0 and connexin, are distinguished between healthy and pathological cases.

Propriétés structurales et fonctionnelles des complexes bactériorhodopsine/Amphipols en solution

Y. Gohon¹, T. Dahmane¹, R. Ruigrock², P. Schuck³, D. Charvolin¹, F. Rappaport¹, P. Timmins², D. Engelman³, C. Tribet¹, J.-L. Popot¹ et C. Ebel⁴

¹IBPC, ou ESPCI, Paris, France, ²UJF-EMBL-CNRS, ou ILL, Grenoble, France, ³NIH ou Université de Yale, USA, ⁴Institut de Biologie Structurale, Grenoble

Les protéines membranaires, qui peuvent comprendre une ou plusieurs chaînes polypeptidiques et des co-facteurs hydrophobes, doivent être extraites de la membrane lipidique pour la plupart des études *in vitro*. Ceci est fait à l'aide de détergents, qui se lient à la place des lipides à la surface transmembranaires des protéines, et les rendent solubles. L'effet dissociant des détergents peut être difficile à contrôler, ce qui entraîne la déstabilisation et l'inactivation irréversible des protéines solubilisées. Ceci a motivé la recherche de nouvelles molécules tensio-actives, tels les polymères amphiphiles (amphipol, APol), développés par Jean-Luc Popot (IBPC) et Christophe Tribet (ESPCI) (PNAS 1996). Les APols possèdent un squelette hydrophile sur lequel sont greffées de nombreuses chaînes hydrophobes. Nous avons caractérisé la protéine membranaire bactériorhodopsine (BR) solubilisé par un amphipol dérivé du polyacrylate, le A8-35, et montré qu'en absence de détergent, elle reste soluble dans son état natif pendant des mois. La BR en complexe avec le A8-35 accomplit un photocycle complet, avec des cinétiques intermédiaires entre celles en solutions de détergent et celles dans la membrane native. Le complexe consiste en des particules globulaires, comprenant un monomère de BR, le jeu complet des lipides de la membrane pourpre, et, dans une distribution périphérique, arrangés en une couche compacte, ~ 2 grammes d'APol par gramme de BR. En absence de APol libre, les particules de BR/APol peuvent s'auto-associer en de petites ou grandes fibrilles ordonnées. Cette étude démontre les fortes potentialités des amphipols pour l'étude structurale et fonctionnelle des protéines membranaires (Gohon et al., *Biophys. J.* (2008) 94, 3523-37).

**– Structure et dynamique des protéines
solubles –**

Structure, dynamique et inhibition des GTPases Arf et de leurs GEFs

J. Cherfils¹, J.-C. Zeeh¹, S. Flisiak¹, B. Guibert¹, M. Zeghouf¹, V. Buosi², A. Thureau², C. van Heijenoort² et E. Guittet²

¹Laboratoire d'Enzymologie et Biochimie Structurale, CNRS, Avenue de la Terrasse 91198 Gif-sur-Yvette France,

²Institut de Chimie des Substances Naturelles, CNRS, Avenue de la Terrasse 91198 Gif-sur-Yvette France

Les facteurs d'échange nucléotidiques (GEFs) ont pour fonction d'activer les petites protéines G (GTPases) en stimulant l'échange GDP/GTP. Ce sont des pièces maîtresses de la régulation de nombreux processus cellulaires comme la signalisation, la dynamique du cytosquelette et le trafic, et de ce fait des cibles pour l'inhibition de processus pathologiques contrôlés par des GTPases. Néanmoins la complexité de leurs interactions en fait de véritables challenges pour la découverte d'inhibiteurs d'interactions protéine-protéine intracellulaires.

Les GTPases de la famille Arf et leurs GEFs, qui sont des régulateurs majeurs du trafic cellulaire, ont ouvert la voie avec la bréfeldine A (BFA), un inhibiteur d'origine naturelle qui piège un intermédiaire réactionnel de la réaction d'échange. Depuis, deux autres familles d'inhibiteurs ont été identifiées par des criblages (virtuel et chimiothèque). Je présenterai les caractéristiques structurales et biophysiques de la réaction d'activation d'Arf par ses GEFs et de son inhibition par des petites molécules, et en quoi ces caractéristiques permettent d'être optimistes sur la "druggability" de tels complexes dans le futur.

Suivre les transitions structurales dans les protéines désordonnées: approche pas marquage paramagnétique et spectroscopie RPE

V. Belle¹, S. Rouger², S. Costanzo², J. Stancar³, S. Longhi², A. Fournel¹ et B. Guigliarelli¹

¹Bioénergétique et Ingénierie des protéines, BIP-UPR 9036, CNRS et Aix-Marseille Universités, 31 Chemin J. Aiguier, 13402 Marseille, ²Architecture et fonction des macromolécules biologiques, AFMB-UMR 6098, CNRS et Aix-Marseille Universités, avenue de Luminy, 13288 Marseille, ³Laboratory of biophysics, "Joseph Stefan" institute, Ljubljana, Slovenia

Les protéines intrinsèquement désordonnées (IDP) remplissent des fonctions essentielles bien qu'elle soient dépourvues de structures secondaires et tertiaires stables dans les conditions physiologiques. La plupart subissent une transition désordre/ordre lors de l'interaction avec un partenaire (repliement induit) et la compréhension du rôle fonctionnel de ce désordre structural représente un intérêt majeur (1). L'insertion de sondes paramagnétiques dans la chaîne polypeptidique et l'analyse de leur mobilité par spectroscopie RPE s'est révélée être une technique très efficace pour le suivi des propriétés structurales des IDP (2,3).

Nous montrerons ici comment cette approche a permis d'étudier en détail le repliement induit du domaine C-terminal (*N-tail*) intrinsèquement désordonné de la nucléoprotéine du virus de la rougeole lors de son interaction avec la phosphoprotéine (*XD*) virale. Une série de mutants de *N-tail* ont été préparés pour insérer un marqueur paramagnétique dans des positions réparties tout au long de la chaîne peptidique, et en chaque position la dynamique de la sonde a été analysée par spectroscopie RPE. Les résultats permettent de cartographier précisément le gain de rigidité de *N-tail* lors de l'interaction avec le partenaire *XD* et révèle un repliement induit en hélice α de la région 488-502. L'influence d'agent de stabilisation de structure secondaire (2,2,2-trifluoroéthanol) a également été examinée, et une analyse fine montre que même en absence de partenaire, cette région est partiellement contrainte, ce qui peut être interprété par l'existence d'états structurés transitoirement peuplés. L'ensemble des données de RPE permet de proposer un modèle cohérent de la transition structurale de *N-tail* lors de l'interaction entre les deux partenaires (4).

Étude de la conformation de la PBP1b de *S. pneumoniae* par diffusion des rayons-X en solution

P. Machebœuf^{1,4}, A. Dessen^{1,4}, M. Piuze², F. Bontems², J. Pérez³ et P. Vachette¹

¹Institut de Biochimie et de Biophysique Moléculaire et Cellulaire, UMR8619, Bât 430, Université de Paris-Sud, 91405 Orsay, ²CNRS, Antenne de l'ICSN (UPR2301) à l'Ecole Polytechnique, Ecole Polytechnique, 91128 Palaiseau,

³Synchrotron SOLEIL, L'Orme des Merisiers, BP48 Saint-Aubin, 91192 Gif-sur-Yvette, ⁴Institut de Biologie Structurale Jean-Pierre Ebel, UMR 5075, CEA, CNRS, 41 Rue Jules Horowitz, 38027 Grenoble

La protéine PBP1b de *S. pneumoniae* fait partie des protéines fixant la pénicilline de classe A. Elle comprend un domaine Transpeptidase (TP) dont la structure cristallographique est connue et un domaine glycosyltransferase de structure inconnue. Des mesures de diffusion des rayons-X (ID02) ont été enregistrées sur l'instrument ID02 de l'ESRF (collaboration avec S. Finet). L'analyse des données obtenues a permis de définir une enveloppe à basse résolution de la protéine complète à l'aide du programme Dammin. Nous avons ensuite modélisé *ab initio* le domaine GT par une chaîne de pseudo-résidus complétant le domaine TP déjà connu (programme Bunch. Nous avons enfin positionné un modèle par homologie de GT en utilisant un programme de modélisation en blocs rigides (Sasref) suivi d'un ajustement des séquences de liaison entre les deux domaines. Le même modèle par homologie a aussi été positionné à l'aide du programme Dadimodo modifié pour permettre cette opération en jouant sur les paramètres internes de la molécule (angles ϕ et ψ de la chaîne principale). Nous présentons la comparaison des résultats de ces deux approches.

La phosphoglycérate kinase: une enzyme du métabolisme de pro-drogues antivirales spécifique et ambidextre

P. Lallemand¹, L. Chaloin¹, S. Arold², C. Gondeau¹, B. Roy³, C. Périgaud³, T. Barman¹ et C. Lionne¹

¹UMR5236, CPBS, ²UMR5048, CBS, ³UMR5247, IBMM, Montpellier

De nombreux analogues de nucléosides sont utilisés en thérapies antivirales et anticancéreuses. Ce sont des pro-drogues qui sont administrées aux patients sous forme nucléosidique pour franchir les membranes cytoplasmiques. Dans les cellules, elles nécessitent donc 3 étapes séquentielles de phosphorylation pour aboutir aux métabolites triphosphates, seuls capables d'exercer l'activité pharmacologique (terminateurs précoces de chaîne). Parmi ces analogues nucléosidiques, ceux de type L (image miroir du type D) sont souvent plus efficaces et moins toxiques que leurs homologues de type D (configuration des nucléosides naturels). A titre d'exemples, la lamivudine et l'emtricitabine sont utilisés dans le traitement du sida. Considérant la diversité de ce type de pro-drogues utilisé en thérapies antivirales et anticancéreuses ou en cours de tests, il semble important de mieux comprendre leur mécanisme de phosphorylation. La conversion des analogues de nucléosides diphosphates en triphosphates par les différentes kinases cellulaires reste largement inexplorée. Pourtant cette dernière étape de phosphorylation est d'un grand intérêt puisque certaines pro-drogues s'accumulent dans la cellule sous forme de diphosphates (NDP), indiquant une inefficacité des kinases impliquées. Il semble que les NDP de type L soient phosphorylés préférentiellement par la phosphoglycérate kinase humaine, une enzyme de la glycolyse. Sa spécificité vis-à-vis de NDP puriques ou pyrimidiques en configuration D ou L a été étudiée et la structure cristalline des différents complexes a été résolue. Ceci constitue désormais une base structurale solide pour la prédiction de l'efficacité de phosphorylation par la PGK de nouveaux analogues à visée thérapeutique.

– Biophysique cellulaire –

Critical role of a dynamic nanodomain organization at the plasma membrane for efficient cell signaling

F. Conchonaud¹, A. Sergé¹, Y. Hamon¹, X.-J. Guo¹, N. Bertaux², H. Rigneault², H.-T. He¹ et D. Marguet¹

¹Centre d'Immunologie de Marseille-Luminy, CNRS UMR6102, INSERM UMR631, Université de la Méditerranée, Marseille, ²Institut Fresnel, CNRS UMR6133, Université Paul Cézanne, Marseille

Knowledge of the dynamic relations and organization of plasma membrane components is crucial to a better understanding of cellular functions^{1,2}. One fundamental question remains as to how a particular spatiotemporal organization of the membrane is able to tune the signaling machine upon physiological stimulation. Recently, we have established an original fluorescence correlation spectroscopy (FCS) approach to investigate the dynamic molecular confinement in the plasma membrane of living cells. This method is sensitive to nanoscale confining structures allowing us to investigate the complexity of the membrane organization^{3–5}. We clearly established that sphingolipid analogs and lipid-anchored proteins undergo transient (tens to hundreds of milliseconds) confinements into small ($\varnothing \approx 60-80\text{nm}$) domains. We also reported that, *in vivo*, the association of specific proteins with nanodomains is required for efficient signal transductions⁶. To fulfill these analyses, we also present a new analytical method, named multiple-target tracing (MTT) which takes advantage of the high resolution provided by single-molecule sensitivity⁷. MTT enables the drawing of images at high densities of tracked particles, thereby providing a global representation of molecular dynamics in cell membranes. Using deflation, we achieved an exhaustive detection of particles, with performances reaching theoretical limits, and a reconnection of trajectories, integrating the statistical information from past trajectories. We demonstrate the power of this new method of analysis by applying it to the epidermal growth factor receptor labeled with quantum dots, in the plasma membrane of live cells.

References: ¹ Marguet D, Lenne PF, Rigneault H, He HT (2006) EMBO J 25:3446; ² He HT, Marguet D (2008) EMBO Rep 9:525; ³ Wawrezinieck L, Rigneault H, Marguet D, Lenne PF (2005) Biophys J 89:4029; ⁴ Lenne PF, Wawrezinieck L, Conchonaud F, Wurtz O, Boned A, Guo XJ, Rigneault H, He HT, Marguet D (2006) EMBO J. 25:3245; ⁵ Wenger J, Conchonaud F, Dintinger J, Wawrezinieck L, Ebbesen T, Rigneault H, Marguet D, Lenne PF (2007) Biophys J 92:913; ⁶ Lasserre R, Guo XJ, Conchonaud F, Hamon Y, Hawchar O, Bernard AM, M'Homa Soudja S, Lenne PF, Rigneault H, Olive D, Bismuth G, Nunes JA, Payrastre B, Marguet D, He HT (2008) Nat Chem Biol DOI: 10.1038/nchembio.103; ⁷ Sergé A, Bertaux N, Rigneault H, Marguet D (2008) Nat Method DOI: 10.1038/NMETH.1233

Mécanosensibilité de cellules adhérentes

A. Asnacios, M. Balland, N. Desprat, M. Ghibaudo, A. Guiroy, S. Hénon, D. Icard-Arcizet, B. Ladoux, D. Mitrossilis, A. Saez et F. Gallet

Laboratoire Matière et Systèmes Complexes (MSC) - UMR 7057 Batiment Condorcet - case 7056 Université Paris-Diderot 75205 Paris cedex 13

Comment une cellule vivante perçoit-elle son environnement mécanique, et quelles conséquences cette mécanosensibilité a-t-elle sur la cohésion des tissus, l'adaptation au substrat, le développement de la polarité cellulaire et la direction de migration ? Des expériences de micromécanique à l'échelle cellulaire (pinces optiques, banc d'étirement uniaxial, réseaux de capteurs de force) permettent d'illustrer quelques aspects de cette question.

Le cytosquelette cellulaire, et en particulier le réseau d'actine, est responsable de la génération et de la répartition des tensions internes, et permet à l'architecture cellulaire de s'adapter aux conditions extérieures. Par des expériences de microrhéologie, nous avons déterminé la réponse de ce réseau à une contrainte imposée, et en avons déduit des informations sur les processus de stockage et de dissipation de l'énergie mécanique, en les reliant notamment à l'activité de moteurs moléculaires comme la myosine. Nous avons également étudié le remodelage de ce réseau en réponse à une contrainte prolongée.

D'autre part, ce réseau est étroitement couplé aux contacts adhésifs, et l'ensemble perçoit et réagit à la rigidité du substrat. L'application d'une contrainte prolongée sur un contact adhésif induit une réponse active, qui se manifeste par un accroissement de la tenue mécanique du contact et un recrutement simultané de protéines pour le consolider.

Enfin, en faisant la cartographie des efforts exercés par une cellule adhérente sur son substrat, nous avons observé que les forces internes de traction augmentent proportionnellement à la rigidité du milieu environnant, et qu'une anisotropie de rigidité induit une anisotropie de la morphologie cellulaire ou de la direction de migration.

FCS diffusion laws in two-phase, two-component lipid bilayers

C. Favard, J. Ehrig, J. Wenger, P. F. Lenne et H. Rigneault

Projet Mosaic - Institut Fresnel, CNRS UMR 6133, D.U. Saint Jérôme, 13397 Marseille cedex 20

Lateral segregation in model lipid and cell membranes has been widely documented during these last decades. It is commonly admitted that segregation occurs at various spatio-temporal scales and therefore is very difficult to characterize. Our group has been pioneered Fluorescence Correlation Spectroscopy (FCS) at various spatial scale¹ to discriminate between variously organized microdomains that prevent the free lateral diffusion of membrane components. Based on extensive confined diffusion modelling studies, it was established that the y-intercept t_0 in the FCS diffusion laws (plot of the diffusion time versus the observation area) is positive in the case of microdomains confinement (dynamic partitioning) but negative in that of trapping in a meshwork (actin-based cytoskeleton corrals)².

In the present work, we have used FCS diffusion laws combined with a complete thermodynamic modelling³ to analyze the behaviour of a two-phase, two-component lipid bilayers (DMPC:DSPC) at different temperatures. The main result obtained using numerical simulations shows a negative t_0 intercept with an absolute value increasing with decreasing temperature. This has been confirmed experimentally on DMPC:DSPC (80:20 mol:mol) mixtures. We will discuss this result in term of phase fluctuation and domain size.

Références :

- 1) L. Wawrezinieck, H. Rigneault, D. Marguet, P.-F. Lenne, (2005) Fluorescence Correlation Spectroscopy Diffusion Laws to Probe the Submicron Cell Membrane Organization, *Biophys. J.*; **89**:4029-4042
- 2) Lenne PF, Wawrezinieck L, Conchonaud F, Wurtz O, Boned A, Guo XJ, Rigneault H, He HT, Marguet D. (2006) Dynamic molecular confinement in the plasma membrane by microdomains and the cytoskeleton meshwork. *EMBO J.*; **25**:3245-56.
- 3) Sugar IP, Biltonen RL. (2005) Lateral diffusion of molecules in two-component lipid bilayer: a Monte Carlo simulation study. *J Phys Chem B*; **109**:7373-86.

Comparaison entre le Modèle de Potts Cellulaire et la morphologie de cellules adhérentes sur supports microstructurés

B. Vianay¹, J. Käfer², E. Planus³, M. Block³, F. Graner² et H. Guillou¹

¹Institut Néel, CNRS & Université Joseph Fourier, BP 166, 38042 Grenoble Cedex 9, ²Laboratoire de spectrométrie Physique, UMR 5588, Université Joseph Fourier Grenoble I & CNRS, 140 Avenue de la Physique, 38402 Saint Martin d'Hères, ³INSERM U823, Equipe DySAD, Institut Albert Bonniot, Site Santé, BP170, 38042 Grenoble

La cellule est considérée comme un système vivant hors équilibre, son adhésion et sa motilité sont des processus issus de phénomènes biologiques fondamentaux. Le processus d'adhésion est caractérisé d'une part par l'établissement d'interactions spécifiques entre des protéines transmembranaires (intégrines) et la fibronectine, une des protéines de la matrice extracellulaire (MEC), et d'autre part par la réorganisation du cytosquelette. Les points d'ancrage et les filaments d'actine du cytosquelette sont des structures extrêmement dynamiques et hors équilibres. Nous avons étudié la morphologie de cellules en adhérence sur un substrat microstructuré. L'introduction d'une distance finie entre les points d'ancrage de la cellule modifie leur distribution ainsi que l'organisation du cytosquelette d'actine, les cellules s'organisent en formes géométriques simples dans lesquelles l'organisation des filaments d'actine et des points d'ancrage est très reproductible. La dynamique de la réorganisation de ces structures est également très ralentie sans que celle des protrusions membranaires soit affectée.

Ces observations nous ont conduit à supposer que les formes auto-organisées des cellules sur support microstructuré peuvent être considérés comme des états métastables. Nous avons testé cette hypothèse en modélisant les cellules à l'aide du modèle de Potts Cellulaire introduit par Glazier et Graner (PRL69 p2013 (1992)). Nous montrons à l'aide de ce modèle thermodynamique qu'il est possible de décrire les formes prises par les cellules comme des minimums d'énergie. Nous discutons des implications biologiques et physiques de ces résultats en terme de protrusions membranaires et fluctuations thermiques et de phénomènes de relaxation dans les cellules.

– **Bioénergétique** –

Singlet oxygen production in photosystem II and its role in signalling

A. Krieger-Liszkay¹, B. Fischer^{2,3} et E. Hideg⁴

¹Service de Bioénergétique Biologie Structurale et Mécanismes, URA 2096, iBiTec-S, CEA Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette, France, ²Department of Environmental Toxicology, EAWAG, 8600 Dübendorf, Switzerland, ³Department of Plant and Microbial Biology, University of California, Berkeley, CA 94720-3102, ⁴Institute of Plant Biology, Biological research Center, Szeged, Hungary

Photosynthetic organisms are subjected to photo-oxidative stress when more light energy is absorbed than used in photosynthesis. Under strong light, highly reactive singlet oxygen can be produced via triplet chlorophyll formation in the reaction centre of photosystem II. In the reaction centre $^1\text{O}_2$ is formed via charge recombination of the light-induced charge pair. Changes in the midpoint potential of the primary quinone acceptor in photosystem II modulate the pathway of charge recombination in photosystem II and influence the yield of singlet oxygen production. Changes in the midpoint potential of the primary quinone acceptor Q_A by different herbicides (DCMU and phenolic herbicides), by point mutations in the Q_A binding pocket and by inactivation of the water-splitting complex on the midpoint potentials can be used as a tool to investigate the charge recombination pathways in PSII. The yield of $^1\text{O}_2$ production is correlated with the midpoint potential of Q_A . Upregulation of expression of nucleus-encoded genes in response to $^1\text{O}_2$ produced by PSII was studied by following the expression level of a $^1\text{O}_2$ responsive reporter gene construct or the glutathione peroxidase homologous gene from *Chlamydomonas reinhardtii*. Recently, we have shown that PSII-generated $^1\text{O}_2$ is able to diffuse out of the thylakoid membranes and even out of the chloroplast by spin trapping EPR spectroscopy and fluorescence microscopy. The role of $^1\text{O}_2$ in signalling will be discussed.

Imagerie de fluorescence appliquée à l'étude *in vivo* de l'activité photosynthétique

J. Alric¹, X. Johnson¹, G. Vandystadt¹, D. Beal¹, R. Dubois² et P. Roussel²

¹Laboratoire de Physiologie Membranaire et Moléculaire du Chloroplaste UMR 7141, CNRS-Paris VI, Institut de Biologie Physico-Chimique, 13, rue Pierre et Marie Curie, 75005 Paris, France, ²Ecole Supérieure de Physique et de Chimie Industrielles de la ville de Paris (ESPCI-Paristech), Laboratoire d'Electronique (UMR CNRS 7084), 75231 Paris Cedex 05, France

Nous venons de réaliser un système d'imagerie numérique adapté aux mesures de fluorescence de chlorophylle *in vivo*. Muni d'une caméra CCD de 12 bits de dynamique et d'une résolution spatiale de 640x480 pixels, ce système atteint une cadence de 1000 images par seconde. Des outils algorithmiques ont été développés pour l'analyse temporelle des données vidéo. Ces instruments et méthodes permettent d'utiliser l'activité photosynthétique des plantes ou des algues unicellulaires comme un outil pour l'étude *in situ* des flux métaboliques impliquant le pouvoir réducteur et le potentiel phosphate (ATP), en relation avec la fixation de carbone atmosphérique (CO_2) ou la consommation de sucres dans la glycolyse. Nous montrons ici quelques études préliminaires de physiologie cellulaire, de métabolisme et de bioénergétique *in vivo* chez la plante *Arabidopsis thaliana*, et nous exposons les perspectives de criblage de mutants d'insertion chez l'algue unicellulaire *Chlamydomonas reinhardtii*.

Métabolisme énergétique d'une bactérie hyperthermophile : Organisation en supercomplexes des voies respiratoires

M. Guiral, P. Infossi, L. Prunetti, M.-C. Giuliani et M.-T. Giudici-Ortoni

Laboratoire de Bioénergétique et Ingénierie des Protéines, IBSM-CNRS, 31 chemin Joseph Aiguier, 13402 Marseille cedex 20

Aquifex aeolicus est une bactérie hyperthermophile (85°C), microaérophile et chimiolithoautotrophe qui nécessite pour sa croissance la présence d'un mélange H₂ / CO₂ / O₂ et d'un composé soufré. Elle utilise l'hydrogène moléculaire comme source d'énergie et l'oxygène moléculaire comme accepteur terminal d'électrons.

Dans un but de mieux comprendre le métabolisme énergétique et de mieux connaître les protéines impliquées dans les différentes voies bioénergétiques de cette bactérie, nous avons mis en place une approche protéomique faisant intervenir la séparation de protéines membranaires par gels bleus natifs, la détection d'activités enzymatiques sur gels et l'identification de protéines par chromatographies multidimensionnelles couplées à la spectrométrie de masse en tandem (2D nanoLC-MS/MS). Cette stratégie nous a permis de mettre en évidence et de caractériser en détail certains complexes respiratoires membranaires mais également des supercomplexes, résultant de l'association de différents complexes.

Par la suite, nous avons purifié deux édifices membranaires d'oxydo-réduction de haut poids moléculaires. Leur caractérisation biochimique et enzymatique a montré qu'ils sont impliqués dans deux voies respiratoires différentes et a permis de proposer un modèle du métabolisme énergétique chez *Aquifex*. Ces travaux ont montré que la voie de réduction de l'oxygène ainsi que celle du soufre présentent une organisation supramoléculaire chez cette bactérie.

– Assemblages biomoléculaires –

Structure tridimensionnelle des adénovirus

G. Schoehn^{2, 1}, P. Fender¹, E. Kremer³, C. Fabry², S. Cusack⁴ et R. Ruigrok²

¹Institut de Biologie Structurale, UMR5075 CEA-CNRS-Univ. J. Fourier, 41 rue Jules Horowitz, 38027 Grenoble cedex 1, ²Unit of Virus Host Cell Interactions, UVHCI, UMR 5233 UJF-EMBL-CNRS, 6 rue Jules Horowitz, B.P. 181, 38042 Grenoble cedex 9, ³Institut de Génétique Moléculaire de Montpellier, CNRS UMR 5535, 1919 Route de Mende, 34293 Montpellier, ⁴EMBL Grenoble Outstation, 6 rue Jules Horowitz, B.P. 181, 38042 Grenoble cedex 9

Les adénovirus sont de gros virus à ADN (1000Å de diamètre). Ils provoquent uniquement des maladies bénignes chez le sujet sain. Ces virus font l'objet de nombreuses études et d'essais de thérapie génique ou anti-cancer *in vitro* mais leur structure n'est pas encore complètement élucidée à l'échelle atomique. La capside icosaédrique de l'adénovirus est composée de 3 protéines majeures : l'hexon qui est trimérique et dont les 240 copies constituent les facettes du virus et le penton qui est une association non covalente entre la base pentamérique et la fibre trimérique. Ces pentons forment les 12 sommets du virus. Plusieurs protéines mineures (IIIa, VI, VIII et IX) stabilisent également cette capside. Nous avons obtenu une structure à 10 Å de résolution pour la capside de ce virus à l'aide d'images de cryo-microscopie électronique. En parallèle, nous avons également calculé des structures tridimensionnelles d'un adénovirus canin et de sous particules virales uniquement constituées par des pentons ou par des bases (dodécaèdres avec et sans fibres). En combinant ces données avec les structures atomiques disponibles pour certaines des protéines de la capside nous avons calculé un modèle quasi atomique de cette capside. Ce modèle nous a permis de localiser non seulement les protéines mineures au sein de cette capside mais également certaines parties absentes des structures cristallographiques.

Nanomanipulation de fibres individuelles de chromatine par pinces magnétiques

A. Bancaud¹, G. Wagner¹, N. Conde e Silva², P. Recouvreur¹, C. Lavelle^{1, 4}, J. Mozziconacci³, H. Wong³, M. Barbi³, E. Le Cam⁴, J.-M. Victor³ et J.-L. Viovy¹

¹Insitut Curie CNRS-UMR 168, Paris, France, ²Institut Jacques Monod CNRS-UMR 7592, Paris, France, ³LPTMC CNRS-UMR 7600, Paris, France, ⁴Institut Gustave Roussy CNRS-UMR 8126, Paris, France

Le nucléosome est l'unité de base de la chromatine, il consiste en une superhélice gauche de 146 paires de bases d'ADN autour d'un octamère d'histones. Cet octamère contient deux copies de chacune des histones H2A, H2B, H3 et H4. Nous utilisons des pinces magnétiques pour sonder la réponse mécanique sous tension et torsion d'une fibre individuelle de chromatine, cette fibre contient 38 nucléosomes placés sur les répétitions de la séquence positionnante 601. De telles fibres peuvent supporter un plus fort surenroulement que l'ADN nu correspondant. Ce comportement est expliqué par le passage entre différentes conformations topologiques du nucléosome, correspondant aux trois états distincts de croisement des ADN entrants et sortants : négatif, nul ou positif. De plus ces fibres présentent un comportement hystérétique lorsqu'elles sont soumises à un fort surenroulement positif, leur longueur est plus grande lorsque la torsion est peu à peu diminuée. Cet hystérésis est la conséquence du piégeage par le nucléosome d'un tour positif. Ces résultats suggèrent un réarrangement structural du nucléosome qui peut être relié à la transition chirale du tétrasome (le tétramère H3-H4 et l'ADN qui lui est attaché). Comme l'énergie de cet état altéré est basse (~6kT) ce comportement peut être impliqué dans les processus physiologiques tels que la transcription ou la réplication pour supporter les contraintes de surenroulement générées par les polymérases.

Supported biomimetic membrane designed for the investigation of a bacterial toxin translocation

C. Rossi¹, C. Lazzarelli², D. Ladant³ et J. Chopineau²

¹UMR 6022 CNRS, Université de Technologie de Compiègne, BP 20529, 60205 Compiègne cedex, ²Université de Nîmes, Rue Docteur Georges Salan, 30021 Nîmes, ³Unité de Biochimie des Interactions Macromoléculaires, Département de Biologie Structurale et Chimie - CNRS URA 2185, Institut Pasteur, 28 rue du Dr Roux, 75724 Paris cedex 15

We describe here the construction of supported, biomimetic membranes for protein-membrane interactions studies. The membrane was obtained from phospholipid vesicles through chemical coupling onto amine grafted gold or glass surfaces and subsequent fusion to form a continuous membrane bilayer. DSPE-PEG-NHS was incorporated into the vesicles to serve as the anchoring phospholipid molecule with the long PEG spacer creating a water-filled compartment between the surface and the bilayer. This supported bilayer model was previously used to monitor the membranes binding properties of the adenylate cyclase toxin (CyaA) from *Bordetella pertussis*. We further implemented this membrane model to study the **translocation** of the catalytic domain of CyaA across the bilayer. Naturally, the CyaA catalytic domain, when it reaches the target cell cytosol, associates with calmodulin (CaM) an activator of the adenylate cyclase activity of CyaA. To mimic this natural situation, CaM was first immobilized on the surface (gold or glass) and then the supported bilayer was assembled over the CaM layer. Supported biomimetic membrane formation onto the CaM layer was confirmed by surface plasmon spectroscopy while membrane fluidity and continuity were observed by fluorescence microscopy. Our results demonstrated the potentialities of such polymer-tethered artificial membranes for the study of protein insertion into and translocation across biological membranes.

Assemblage des capsides du bactériophage T5

A. Huet¹, J. Conway², Z. Haj Slimane¹, P. Decottignies¹, L. Letellier¹ et P. Boulanger¹

¹CNRS UMR 8619 Institut de Biochimie et Biophysique Moléculaire et Cellulaire (IBBMC) Bat 430 - Université Paris Sud F-91405 Orsay cedex, ²Department of Structural Biology University of Pittsburgh School of Medicine Biomedical Science Tower 3, Room 2047 3501 5th Ave Pittsburgh, PA 15260 U.S.A.

Les bactériophages sont des modèles privilégiés pour étudier les mécanismes d'auto-assemblage des virus qui possèdent une capsidie à symétrie icosaédrique.

L'assemblage des capsides débute par la formation de procapsides vides d'ADN qui subissent différentes modifications structurales au cours de l'encapsidation de l'ADN. Dans le cas du phage T5, la capsidie icosaédrique résulte de l'association d'unités hexamériques (faces) et pentamériques (sommets) de la protéine majeure de tête (775 copies). Deux autres protéines sont nécessaires à la formation de la capsidie: la portale (12 copies) qui forme le pore d'entrée de l'ADN au niveau d'un sommet et une protéase de maturation (20 copies). Nous étudions les processus d'assemblage et d'expansion des procapsides.

A l'aide d'un mutant du phage T5 dont le moteur moléculaire d'encapsidation est inactif, nous avons isolé deux formes de la procapsidie vide, avant et après expansion. Leur structure, déterminée par cryomicroscopie électronique et reconstruction d'image révèle d'importants réarrangements structuraux.

Par ailleurs, l'auto-assemblage des capsides est étudié par la surexpression chez *E. coli* des gènes codant pour les protéines de capsides. Nous avons caractérisé les différentes structures obtenues, établi le rôle de la protéase de maturation dans la formation des pentamères et celui de la portale dans la régulation de l'auto-assemblage.

Ces résultats permettent également d'aborder l'étude plus large de l'encapsidation du génome du phage T5.

G.G.M.M. – Dynamique et modélisation - 1

Interactions protéine-glucides - structure, thermodynamique et modélisation

A. Imberty

CERMAV-CNRS, BP 53, 601 rue de la chimie, 38041 Grenoble cedex 9

L'arsenal que les bactéries utilisent pour reconnaître, adhérer et infecter leur hôte comprend plusieurs types de protéines reconnaissant des sucres. Seuls, trois types de ces récepteurs ont été caractérisés structurellement : les toxines, les adhésines des souches uro- et entéro-pathogènes de *E. coli* et les lectines solubles.

Les interactions lectine-glucide sont généralement caractérisées par une faible affinité pour le ligand, compensée par la multivalence de ces protéines qui résulte en une forte avidité pour des substrats complexes tels qu'on les rencontre sur des surfaces cellulaires. Les affinités sont particulièrement faibles pour les monosaccharides. Les oligosaccharides de plus grande taille sont mieux reconnus et les interactions sont caractérisées par une contribution enthalpique favorable, principalement due aux liaisons hydrogène, mais contrebalancée par une contribution entropique défavorable, due à un réarrangement du solvant ou à une perte de la flexibilité conformationnelle du ligand.

L'intérêt récent pour les lectines bactériennes a été accompagné par leur caractérisation thermodynamique qui a démontré des affinités nettement plus élevées que celles observées chez les plantes et les animaux. Les lectines à calcium de plusieurs pathogènes opportunistes présentent des affinités sub-micromolaire pour leurs ligands glucidiques. Une combinaison de microcalorimétrie de titration, de cristallographie des protéines et de modélisation moléculaire (docking et dynamique) a été utilisée pour étudier les bases thermodynamiques et structurales de la haute affinité des lectines des bactéries pathogènes pour les glucides de leur hôtes.

Nouveaux outils pour le calcul objectif de structures RMN et pour une annotation fonctionnelle correcte des protéines : le cas de la coordination du Zinc

A. Bernard¹, B. Bardiaux¹, M. Sattler² et M. Nilges¹

¹Institut Pasteur – Unité de Bioinformatique Structurale – URA CNRS 2185, ²EMBL Heidelberg, Meyerhofstrasse 1, 69117 Heidelberg, Germany

La RMN est une méthode largement utilisée pour la détermination des structures de protéines en solution. Le développement de cette approche dans le cadre de la protéomique structurale est néanmoins entravé par des erreurs dans les structures dues au manque d'objectivité dans l'utilisation des données mesurées expérimentalement. Des outils ont récemment été développés: une forme log-harmonique du potentiel de contraintes de distance et le réseau d'encrage "network-anchoring", et peuvent aider à répondre à ce point.

Une importante source d'erreur dans les structures RMN est la détermination incorrecte des ponts disulfures ou de la coordination du Zinc. Nous montrerons comment le potentiel log-harmonique ainsi que le réseau d'encrage peuvent déterminer la coordination du Zinc dans le domaine MYND, qui est un domaine conservé dans de nombreuses protéines impliquées dans le développement ou associées à des cancers. Dans le domaine MYND, les deux sites de coordination du Zinc, définis par sept cystéines et une histidine, peuvent adopter une topologie séquentielle ou croisée, qui détermine l'appartenance du domaine à une parmi deux familles distinctes de protéines. La détermination correcte de la coordination des Zincs n'est donc pas seulement importante pour la précision de la structure, mais aussi pour l'annotation fonctionnelle de la protéine.

Le potentiel log-harmonique et le réseau d'ancrage, associés à une analyse postérieure de la qualité des structures, permettent de choisir la topologie correcte de la coordination des Zinc. Ces deux outils sont déjà ou seront bientôt disponibles dans ARIA (aria.pasteur.fr).

“Restrained” molecular dynamics simulations: a helpful tool in docking protocols

S. Bourg¹, D. Genest², N. Garnier², M. Genest², C. Marot³ et L. Morin-Allory³

¹Fédération de Recherche “Physique Chimie du Vivant” CNRS 2708, Rue Charles Sadron, 45071 Orléans cedex 2, France,

²Centre de Biophysique Moléculaire (affiliated to the University of Orléans and to INSERM), CNRS, Rue Charles Sadron, 45071 Orléans cedex 2, France, ³Institut de Chimie Organique et Analytique, CNRS - Université d’Orléans, BP 6759, Rue de Chartres, 45067 Orléans cedex 2, France

Docking is used as a virtual screening tool in order to identify potential ligands, among larger and larger compound libraries, for receptors whose 3D structure is resolved.

Molecular dynamics simulation is a well known technique to study such receptors, their dynamic behaviour and to explore their conformational space.

Therefore rational drug design takes advantage of combining those two techniques (1).

Explicit solvent molecular dynamics (MD) simulations have been achieved on PPARgamma receptor in order to take into account protein flexibility in a “scoring model” study (2).

We will present a technique of restrained MD simulation in the gas phase, where solvent is replaced by tuned position constraints on chosen alpha carbon atoms, allowing the exploration of the receptor conformational space in shorter time than within explicit solvent simulations (by a factor of about 5 to 10). The role of the restrains is to maintain the position and dynamics on the chosen alpha carbons.

To conclude this time saving will make realistic the use of MD simulations in routine, within docking projects.

References:

1: Combining Docking and Molecular Dynamic Simulations in Drug Design, H. Alonso, A. A. Bliznyuk, J. E. Gready, *Med. Res. Rev.*, **2006**, 26 (5), 531-568

2: Docking-scoring strategies assisted by data analysis. Application to virtual screening of COX-2 and PPARgamma therapeutical targets, A. Arrault, Thesis, Université d’Orléans, 2007

Modélisation à l’échelle atomique de la flexibilité biomoléculaire par la méthode des Modes Statiques

M. Brut, G. Renvez, A. Estève, M. Djafari Rouhani et G. Landa

LAAS-CNRS, Université de Toulouse, 7 avenue du Colonel Roche 31077 Toulouse

Nous proposons une nouvelle méthode pour le traitement de la flexibilité macromoléculaire à l’échelle atomique appelée Méthode des Modes Statiques. Cette méthode est fondée sur le concept de l’“induced-fit”, *i.e.* elle cartographie les déformations intrinsèques d’une macromolécule assujettie à des excitations extérieures. L’algorithme permet d’obtenir, à partir des constantes de force contenues dans le modèle énergétique, un ensemble de déformations, chacune correspondant à une interaction spécifique sur un site spécifique. Dans ce cadre, les interactions inter ou intra moléculaires peuvent être exprimées en termes de sites d’interaction, les déformations moléculaires induites étant extraites des Modes Statiques préalablement calculés pour chaque molécule. Des exemples préliminaires de ces calculs sur divers types de molécules, peptides, nucléotides, polymères, visent à illustrer les applications potentielles de la méthode, particulièrement celles où la modélisation prédictive passe par une prise en compte de la flexibilité moléculaire : docking, allostérie, effets de mutations...

G.G.M.M. – Dynamique et modélisation - 2

Elastine : structure/fonction/dynamique

N. Belloy¹, N. Floquet², S. Baud¹, P. Derreumaux³, L. Duca¹, L. Debelle¹, L. Martiny¹ et M. Dauchez¹

¹CNRS UMR 6237 Medyc, Laboratoire SiRMa, Université de Reims Champagne Ardenne, 51687 REIMS Cedex2,

²CNRS UMR 5247, Institut des BioMolécules Max Mousseron, Université de Montpellier I 34093 Montpellier Cedex,

³CNRS UPR 9080 Laboratoire de Biochimie Théorique - Institut de Biologie Physico-Chimique, 75005 Paris

L'élastine est la macromolécule de la matrice extracellulaire responsable de la résilience des tissus des vertébrés. On la trouve sous forme de fibres élastiques dans les tissus soumis à de fortes contraintes mécaniques nécessitant des cycles répétés d'extension et de retour à leur structure d'origine tels que la peau, les artères, les poumons ou encore les ligaments. L'élastine est un polymère insoluble résultant de l'association de plusieurs molécules de tropoélastine, son précurseur soluble, et a la particularité de n'être élastique qu'en présence d'eau. La structure primaire de la tropoélastine humaine est connue et a la particularité d'avoir 4 AA (P, G, V, A) représentant plus de 75 % de la séquence. La tropoélastine se présente sous forme d'une alternance de domaines hydrophiles et d'autres extrêmement hydrophobes.

Depuis plusieurs années, nous avons caractérisé, en collaboration avec l'équipe du Pr A Tamburro de l'Université de Potenza (Italie), de nombreux exons et peptides de la tropoélastine intervenant dans différents processus et pathologies. Ces caractérisations se sont faites tant sur le plan physico-chimique et le plan structural, que ce soit par méthodes expérimentales de spectroscopies (IR, DC et/ou RMN) que par méthodes théoriques de modélisation moléculaire (dynamique moléculaire, monte-carlo), que sur les plans biochimique et biologique, permettant ainsi une compréhension fine des relations structure/fonction/dynamique.

Actuellement un travail important est effectué sur la compréhension des mécanismes d'action qui sont à la base de la formation de fibres de type amyloïde lors de la dégradation de l'élastine au cours du vieillissement. Une bonne compréhension des mécanismes d'action impliqués aux échelles fines de la structure atomique permet de répondre aux questions posées lors du processus d'oligomérisation associé à la dégradation des fibres élastiques à des échelles plus grandes, mésoscopiques et macroscopiques. Nous utilisons pour cela des méthodes de replica exchange et la méthode OPEP développée par l'équipe de Philippe Derreumaux.

Insights into dynamic character of *Burkholderia cepacia* lipase by molecular modelling and robotic-based path planning approaches

S. Barbe¹, V. Lafaquière¹, D. Guieysse¹, J. Cortés², P. Monsan¹, T. Siméon², M. Remaud-Siméon¹ et I. André¹

¹UMR5504, UMR792 Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés, CNRS, INRA, INSA, 31400 Toulouse, France., ²LAAS-CNRS, 7, avenue du Colonel-Roche, 31077 Toulouse, France.

The use of enzymes as biocatalysts is of a great industrial interest for the preparation of chiral building blocks, especially by kinetic resolution of racemic mixtures. In this field, lipases are among the most employed enzymes. Widely distributed in nature, these enzymes catalyze the hydrolysis and the synthesis of a wide range of soluble and insoluble organic compounds, making them potential catalysts for a wide variety of applications in chemical, pharmaceutical and food industries. The interest of using lipases lies in their enantioselectivity which has been shown to be modulated by reaction conditions. Nonetheless, structural determinants and molecular motions controlling lipase activity and selectivity are not yet fully understood.

In this context, we studied the role of the movement of a sub-domain covering the active site of *Burkholderia cepacia* lipase (BCL) on its activation as well as the influence of the substrate accessibility to BCL active site on the enzyme enantioselectivity. Atomic-resolution of such slow-timescale molecular motions is out of reach for currently available experimental techniques. Therefore, computational methods are needed to complement experimentation. For this purpose, a mixed approach combining both molecular modelling techniques and motion planning algorithms originally used in robotics was developed by the LAAS-CNRS and applied to investigate BCL molecular motions. Compared to classical molecular modelling techniques, this novel approach allowed a performance gain of several orders of magnitude (hours vs weeks) to compute continuous large amplitude protein motions in solvent environment and accessibility pathways of substrates from the protein surface to a buried protein active site.

Computational simulations were used to drive directed mutagenesis experiments to enhance lipase activity and enantioselectivity further. At a more general level, this fast technique could be used as a pre-filtering procedure to select a catalyst or accelerate the engineering of a given catalyst for a given racemate resolution.

Structural dynamics of RXR ligand-binding domain: a MD study

G. Marchetti et A. Dejaegere

Department of Structural Biology and Genomics - Biocomputing, IGBMC, Illkirch, France

Signalling by nuclear receptors (NRs) is one of the major signal transduction paradigms invented by metazoans to regulate gene transcription. The most prominent feature differentiating them from other transcription factors is their capacity to bind small hydrophobic molecules specifically. Molecular and structural studies reveal that these ligands constitute regulatory signals, which modify the NR transcriptional activity through conformational changes.

Prototypical NRs share a common structural organization with a variable amino-terminal (Nter) domain, a conserved DNA-binding domain (DBD) and a C-terminal (Cter) ligand-binding domain (LBD). From a regulatory point of view, the LBD is the most important domain, containing both the ligand-binding pocket and the ligand-dependent transactivation function.

We use molecular simulations to study the molecular mechanism of ligand recognition and ligand induced conformational changes in the retinoic acid receptor. RXR LBD is known to undergo a structural change that involves its Cter helix (helix H12) between the apo form and ligand bound form. Recent work suggest that this conformational transition has repercussion that extend further than helix H12 and the amino acids in direct contact with it, and affect the global dynamics of the LBD.

We use molecular dynamics to highlight dynamic links between H12 and distant amino acids.

The implications of the MD simulations for the mechanism of ligand activation and allosteric communication in RXR will be discussed.

A combination of rigid and flexible docking for elucidating complexes involving DARC inter-ceptor, a multispecific seven-transmembrane helices receptor

L. Autin, A. de Brevern et C. Etchebest

UMR-S 726 INSERM PARIS-DIDEROT

The **DARC** protein (Duffy antigen/receptor for chemokine) is an erythrocyte 7 TM-receptor that binds chemokines but also malaria parasites (*Plasmodium vivax* and *Plasmodium knowlesi*). In contrast to other chemokine receptors, DARC is promiscuous and is able to bind CC chemokines classes e.g RANTES and CXC–L8 chemokines. Biological data show that the four extracellular domains (ECDs) of DARC are essential for its interaction with chemokines, whilst the first (ECD1) is sufficient for the interaction with malaria erythrocyte-binding protein (duffy binding protein DBP). Importantly, ECD1 domain is a **highly flexible** 50 residues peptide with two sulfated tyrosines.

To further understand the interaction between DARC and its ligands, we have tested different docking strategies. Starting from a 3D structural model of DARC (de Brevern et al, 2005), including ECD1 in a free state structure, we explored the binding sites of *Plasmodium vivax* DBP and CXC-L8. In both cases, a rigid-body docking failed to find a solution compatible with all the experimental data.

Then, we have elaborated an original protocol, combining semi-flexible and semi-rigid dockings that take account ECD1 flexibility: i) the flexible ECD1 domain is independently docked on a rigid ligand using the flexible docking tools of ICM (Molsoft) ii) in parallel, the rigid ligand is docked on the rigid transmembrane domain iii) solutions from both steps are combined and only those compatible with bond constraints between ECD1 and TM1 are selected. This approach yields a 3D-model for DARC-CXC-L8 and DARC-DBP complexes, both consistent with available experimental data. Such models permit us to identify and predict potential residue target for mutagenesis, and to define the area of interaction for receptor and both ligands.

– Communications par affiches –

**– Nouvelles méthodes, nouvelles approches en
biophysique des acides nucléiques –**

Affiche 1

Effet des contre-ions monovalents à concentration physiologique sur la structure et la dynamique des acides nucléiques

J. Abi Ghanem^{1,2}, B. Heddi¹ et B. Hartmann^{1,2}

¹Laboratoire de Biochimie Théorique, CNRS UPR 9080, IBPC, 13 rue Pierre et Marie Curie, 75005 Paris, ²Equipe de Bioinformatique Génomique et Moléculaire, Unité Inserm S726, INTS, 6 rue Alexandre Cabanel, 75015 Paris

Une problématique majeure en biologie structurale est l'influence du milieu sur l'ADN. L'ADN est une molécule fortement chargée négativement, et l'existence même de la double hélice dépend de la présence de cations. En plus de ce rôle d'écrantage, les cations monovalents à concentration physiologique agissent sur la structure et la dynamique de l'ADN. Cet effet, qui est longtemps resté une question ouverte, vient d'être démontré par RMN. D'après ces expériences, les mouvements des groupements phosphate et certains paramètres de la double hélice comme la courbure et l'enroulement apparaissent significativement dépendant du type d'ion utilisé, en particulier autour des guanines.

Notre but consiste à élucider ces observations expérimentales en utilisant la modélisation moléculaire. Nous avons d'abord montré que les atomes N7 et O6 de la guanine, très électronégatifs et largement accessibles dans le grand sillon, sont bien des cibles préférentielles pour un ion Na⁺. En contraignant ensuite un ion Na⁺ à parcourir les deux sillons de l'ADN, nous avons établi que dans certains secteurs du grand sillon, l'ion était en position de générer des interactions électrostatiques à moyenne portée avec des atomes appartenant aux bases (N7, O6) et au brin phosphodiester (O5', O3'). Ainsi positionné, l'ion module localement la dynamique de la double hélice *via* les mouvements des groupements phosphates. Ces résultats nous permettent d'expliquer au niveau atomique l'effet des ions sur les acides nucléiques tel qu'il a été vu en RMN, et qui doit être pris en compte pour mieux comprendre les relations structure/fonction de ces molécules.

Affiche 2

Analyse de la cinétique de repliement du riboswitch à vitamine B1 de *E. coli*

D. Burnouf et P. Dumas

Architecture et Réactivité de l'ARN, UPR 9002 du CNRS, IBMC, 15 rue Descartes, 67084, Strasbourg cedex

Les «*riboswitches*» sont des ARN régulateurs retrouvés chez les procaryotes et les eucaryotes principalement dans les régions 5'UTR de certains ARN messagers. Cette régulation s'effectue grâce à un changement de conformation résultant de la liaison d'un ligand spécifique (purine, vitamine, acides aminés, ...), voire pour les bactéries suite à un simple changement de température (ARN thermosenseur). Quelqu'en soit la cause, le changement de conformation peut conduire, selon les cas, aussi bien à l'activation qu'à la répression de la transcription comme de la traduction du gène, le processus de répression pouvant être la dégradation de l'ARNm. Nous nous sommes intéressés au riboswitch de la vitamine B1 de *E. coli* dont la structure cristallographique est connue (2CKY) et dont la dynamique de repliement a déjà été étudiée par remplacement ponctuel d'adénines par des 2-aminopurines fluorescentes [Lang *et al.*, NAR **35** (2007) 5370]. Notre approche, reposant sur la production de radicaux libres OH[•] par la réaction de Fenton, est plus globale. Elle permet en effet d'analyser l'évolution de la protection ou de l'exposition aux radicaux suite à l'addition du ligand **pour chaque position de l'ARN**, et non pas pour quelques unes. Une intéressante comparaison des deux méthodes peut donc être faite. L'analyse des résultats a nécessité un développement spécifique qui sera exposé. Ce travail réalisé avec des appareillages classiques (KinTek) rentre en fait dans un cadre plus large visant à développer les méthodes microfluidiques pour l'étude cinétique complexe du repliement d'ARN au cours même de leur transcription. Cette stratégie nouvelle sera aussi exposée.

Affiche 3

Aminoglycoside binding to HIV-1 RNA dimerization initiation site: high-resolution structures, thermodynamics and effects of the kissing-loop to duplex transition

S. Freisz¹, S. Bernacchi¹, R. Marquet¹, C. Maechling², P. Dumas¹ et E. Ennifar¹

¹Architecture et Réactivité de l'ARN, UPR 9002 CNRS, Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire, 15 rue René Descartes, 67084 Strasbourg, France, ²UMR 7175-CNRS, Université Louis Pasteur, Faculté de Pharmacie, 74, Route du Rhin, 67401 Illkirch cedex, France

HIV-1 Dimerization Initiation Site (DIS) is a conserved stem-loop in the 5' non-coding region of the genomic RNA. Alteration of the DIS affects RNA dimerization, packaging and reverse transcription, and reduces viral infectivity. The DIS loop contains a self-complementary sequence that promotes genome dimerization by forming a kissing-loop complex. This complex is stabilized into an extended duplex form by the viral NCp7 nucleocapsid protein. We have previously shown that aminoglycoside antibiotics can specifically bind the DIS kissing-loop. X-ray structures of the HIV-1 DIS kissing-loop bound to aminoglycosides were solved, revealing some significant differences compared to equivalent ribosomal A site/aminoglycoside complexes.

Using various biophysical techniques (fluorescence, ITC microcalorimetry, UV and NMR spectroscopies) we characterized the HIV-1 DIS/aminoglycoside antibiotics interactions. We have shown that the affinity of aminoglycosides for the HIV-1 DIS RNA was significantly higher than for their natural target (the ribosomal A site) and that the drug induces a strong stabilization of the RNA loop-loop complex, blocking its conversion into the duplex form. We have also identified that apramycin, an aminoglycoside having a unique chemical structure with a bicycling ring, can also specifically bind the HIV-1 DIS kissing-loop dimer, but in a different way than the neomycin family. In addition, high-resolution structures of the duplex form of the HIV-1 DIS bound to various aminoglycoside antibiotics revealed differences in the drug/RNA recognition compared to previous aminoglycoside/DIS kissing-loop structures. These structures also show that it is possible to target the HIV-1 DIS dimer before and after the NCp7-assisted RNA maturation with the same molecule.

Affiche 4

Analyse par résonance de plasmons de surface de l'interaction ER/ERE: application au dosage des perturbateurs endocriniens

D. Habauzit¹, S. Bayle¹, M. Pugniere³, J. Armengaud⁴, B. Roig¹ et J. Chopineau²

¹Ecole des Mines d'Alès, Centre LGEL, JE 2524, Alès, ²Université de Nîmes, JE2524, Nîmes, ³CNRS UMR 5160, CPBS, Faculté de Pharmacie, Montpellier, ⁴CEA Valrho, DSV-iBEB-SBTN-LBSP, Bagnols sur Cèze

Les composés à action œstrogéniques appartiennent à une famille de composés qui interagissent avec des un groupe de récepteurs nucléaires, les récepteurs aux œstrogènes (ER). Ces récepteurs une fois activés, par ces composés, dimérisent puis interagissent avec courtes séquence consensus d'ADN, les éléments de réponses aux œstrogènes, situées dans les zones promotrices des gènes qu'ils régulent. L'interaction de ces récepteurs avec ces séquences permet le recrutement de différents cofacteurs responsables de la transcription.

En immobilisant ces courtes séquences d'ADN sur une surface, l'effet des composés à action œstrogéniques sur la dimérisation du récepteur aux œstrogènes peut être suivi en temps réel par résonance de plasmons de surface. Ainsi, par ce types d'approche les composés à action œstrogéniques peuvent être quantifiés, jusqu'à une limite de détection actuelle de 1,4 µg/L. D'autre part, l'effet de la composition et de l'organisation de ces courtes séquences d'ADN sur la capacité des récepteurs aux œstrogènes à interagir avec celles-ci peut être évalué.

Habauzit D. Chopineau J. Roig B. (2007). SPR-based biosensor: a detection tool for hormonal compound detection. *Anal. Bioanal. Chem.*, 387, 1215-1223.

Habauzit D. Armengaud J. Roig B. Chopineau J. (2008). Determination of estrogen presence in water by SPR using estrogen receptor dimerization. *Anal. Bioanal. Chem.* 390, 873-883.

Affiche 5

Les interactions ADN-protéine élucidées par RMN : Exemple de la protéine structurale MC1 d'*Archaea*

F. Paquet, F. Culard, U. Asseline et G. Lancelot

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

La protéine MC1 est présente dans différentes *Archaea* du genre *Methanosarcina*. C'est une petite protéine basique (11kDa), abondante, pouvant induire des courbures de l'ADN et pouvant également compacter l'ADN circulaire (Teyssier C. et al, *Biochemistry* 1996, **35**, 7954).

La structure tridimensionnelle de MC1 a été réalisée par ¹H-RMN sur la protéine extraite de la souche CHTI 55 (Paquet F. et al, *Biochemistry* 2004, **43**, 17971). Elle est composée d'une hélice- α , de 5 feuillets- β et d'une grande boucle flexible. La structure a été affinée sur la protéine marquée ¹³C, ¹⁵N grâce à des contraintes supplémentaires et des RDC. Le complexe a été préparé avec la protéine ¹⁵N-MC1 et un oligonucléotide de 15 paires de bases choisi pour sa forte affinité ($K_D=2nM$) (De Vuyst G. et al, *Biochemistry* 2005, **44**, 10369).

L'utilisation de sondes paramagnétiques a permis de déterminer la polarité du complexe en démontrant la proximité des résidus 64-84 de la boucle avec le tract de guanines. La variation de déplacement chimique ¹H et ¹⁵N des NH peptidiques a montré que certains résidus de la boucle, de l'hélice- α et du feuillet- β_4 sont impliqués dans l'interaction ADN-protéine. Les NOEs transférés à partir des protons imino de l'ADN vers la protéine ont permis de préciser que la région centrale de l'ADN se trouve à proximité de S36 et R46. Enfin des NOEs intermoléculaires détectés sur les spectres NOESY avec ou sans demi filtre ont permis de déterminer les résidus en contact avec l'ADN (W74, P72 etc.). L'utilisation de toutes ces contraintes dans le programme HADDOCK a permis d'obtenir une structure du complexe. Les régions impliquées dans les interactions sont en accord avec les résultats obtenus avec les sondes chimiques (De Vuyst G. et al, *Biochemistry* 2005, **44**, 10369).

Affiche 6

Purification de complexes d'initiation de la traduction de l'ARNm de l'histone H4 murine

L. Prongidi-Fix¹, B. Klaholz², F. Martin¹ et G. Eriani¹

¹Architecture et Réactivité de l'ARN, Université Louis Pasteur, Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS, 15 rue René Descartes, 67084 Strasbourg, France, ²Laboratoire de Biologie et Génomique Structurales, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS/INSERM/ULP, 1 rue Laurent Fries, BP 163, F-67404 Illkirch cedex, France

Les histones qui composent la chromatine sont des protéines essentielles, à la base même de l'expression du génome et du fonctionnement de la cellule. Ce sont des petites protéines, particulièrement riches en acides aminés basiques, hautement conservées au cours de l'évolution.

Les histones présentent une régulation coordonnée de leur production avec la réplication de l'ADN qui doit respecter certains critères afin d'assurer la survie de la cellule et le bon déroulement de la division cellulaire ; elle doit notamment être rapide, massive, ciblée dans le temps et stœchiométrique. La synthèse des histones diffère de l'expression classique en nombreux points comme la maturation des ARNm en 3', leur export du noyau vers le cytoplasme, leur traduction et dégradation. Les gènes d'histones de type réplication-dépendants ne présentent pas d'introns. Leur expression fait intervenir des facteurs spécifiques, et leurs messagers, qui ne sont pas polyadénylés en 3', contiennent des extrémités 5' non traduites anormalement courtes.

Afin de déterminer les structures responsables du recrutement des ribosomes et de mettre en évidence les facteurs mis en jeu durant l'initiation de la traduction du messenger d'histone H4-12 de souris, nous avons entrepris la purification des complexes d'initiation par la méthode du « streptotag ». Pour cela, nous avons fusionné à l'extrémité 3' de l'ARNm de l'histone H4-12 un aptamère d'ARN qui lie spécifiquement la streptomycine. L'ARN hybride a été incubé en présence d'un extrait de traduction de réticulocytes de lapin riche en ribosomes et facteurs de traduction. Les complexes formés ont été sélectionnés par affinité sur une colonne de Sepharose couplée à la dihydrostreptomycine, lavés et élués à la streptomycine.

Affiche 7

Une méthode de cartographie des interactions protéine-protéine, par radiolyse

Q. Raffy², G. Mousseau¹, F. Ochsenbein¹, R. Thai¹, J.-C. Cintrat¹, B. Rousseau¹, J.-P. Renault² et S. Pin²

¹DSV / iBiTec-S, CEA / Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette Cedex, ²DSM / IRAMIS, CEA / Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette Cedex

Nous développons une méthode de footprinting utilisant les radicaux hydroxyles issus de la radiolyse de l'eau pour permettre un marquage radioactif des protéines.

Les protéines isolées et le complexe protéine-protéine en solution sont soumis séparément à des irradiations, qui induisent la formation de radicaux OH· par radiolyse de l'eau. Seuls les OH· générés à proximité immédiate de la protéine réagissent pour former des radicaux carbo-centrés sur les résidus accessibles au solvant. Ceux-ci sont ensuite réparés par réaction avec une molécule tritiée, le tritium jouant le rôle d'étiquette radioactive permettant d'identifier facilement les radicaux formés. Lorsque le complexe protéine-protéine est formé, la zone d'interaction étant moins accessible au solvant, celle-ci incorpore moins de tritium, ce qui permet son identification par comparaison avec le marquage des partenaires isolés. (Mousseau *et al.*, *Anal. Chem.* **2007**, 79, p. 5444.).

Après avoir testé le marquage sur des acides aminés isolés et des peptides, nous l'avons appliqué à l'étude d'un complexe protéine-peptide. Les premières expériences ont été menées sur le complexe que forme la protéine chaperon d'histone hAsf1₁₁₅₆ avec un fragment de l'histone H3, dont la structure a été obtenue par diffraction des rayons X et par RMN. Les résultats obtenus par marquage au tritium indiquent que trois résidus du fragment de H3 sont principalement impliqués dans l'interaction (L₁₂₆, R₁₂₉ et I₁₃₀), en accord avec les structures décrites. Afin de valider complètement cette méthode, nous cherchons maintenant à caractériser les résidus de hAsf1 impliqués dans l'interaction avec le fragment de H3, qui seront comparés aux structures obtenues par cristallographie et RMN du complexe.

– Nouvelles approches RMN en biologie –

Affiche 8

Conception de ligands de haute affinité de l'ADN polymérase beta par criblage virtuel et RMN selon une approche par fragment

C. Hazan¹, F. Boudsocq², V. Gervais¹, O. Saurel¹, C. Cazaux¹, J. Czaplicki¹ et A. Milon¹

¹Université de Toulouse, UPS ; Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale IPBS/CNRS UMR 5089, 205 route de Narbonne, 31077 Toulouse cedex, ²Université de Toulouse, UPS, Laboratoire de Biologie Moléculaire des Eucaryotes LBME/CNRS UMR 5099, 118 route de Narbonne, 31077 Toulouse cedex

L'ADN polymérase beta (pol beta) est une cible pharmacologique de la progression tumorale et de la résistance aux traitements anti-tumoraux, puisqu'elle permet la tolérance des lésions qu'ils induisent, et de certaines maladies neuro-dégénératives. Plusieurs inhibiteurs de pol beta ont déjà été identifiés, mais leur affinité est insuffisante pour un développement pharmacologique.

L'approche par fragment permet de concevoir des molécules de haute affinité, en liant de façon covalente deux fragments d'affinité moyenne pour pol beta, se fixant dans deux sites disjoints mais proches. Le premier fragment, l'acide pamoïque, est issu de la littérature. La caractérisation structurale de son interaction avec pol beta a permis de déterminer deux sites adjacents au site de fixation de l'acide pamoïque.

Un criblage virtuel par le logiciel FlexX de 28714 fragments issus de la base de molécules commerciales ZINC sur l'un de ces deux sites a été utilisé comme filtre en amont d'un criblage expérimental par RMN, avec notamment des expériences de différence de transfert de saturation et de cartographie de déplacements chimiques. En effet, la RMN permet le criblage de molécules d'affinité moyenne et apporte l'information structurale requise pour lier les fragments d'une façon qui respecte leur positionnement individuel sur la cible. A l'issue de ces deux étapes, 4 fragments ont été retenus pour concevoir 4 molécules hybrides acide pamoïque-linker-fragment. Des tests de réplication *in vitro* d'un oligonucléotide porteur d'une amorce nucléique par pol beta ont montré que deux des molécules synthétisées avaient une activité inhibitrice significativement meilleure que l'acide pamoïque. Ces molécules sont donc des points de départ pour un nouveau cycle d'optimisation structurale et fonctionnelle.

Affiche 9

TCL1 oncogenic proteins : more than just co-activators for Akt

V. Ropars¹, D. Auguin¹, M. Noguchi², M.-H. Stern³, S. Arold¹ et C. Roumestand¹

¹Centre de Biochimie Structurale, Faculté de Pharmacie, Montpellier France, ²Division of Cancer Biology, Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University, Japan, ³INSERM U509, Institut Curie, Paris, France

TCL1 is an oncogenic protein that was found first to function as an Akt kinase co-activator. Akt plays a central role in the regulation of cellular antiapoptosis and, thus, is a core intra-cellular survival factor underlying various human neoplastic diseases. TCL1 co-activates Akt by binding to its pleckstrin homology domain (PHD). We combined NMR methods and small angle X-ray scattering to determine the affinities, molecular interfaces and low resolution structure of the complex formed between Akt-PHD and TCL1. Moreover, we observed that the affinity of Akt-PHD for MTCPI, a member of the TCL1 family, is significantly lower (two orders of magnitude) than for TCL1. MTCPI is involved in similar diseases as TCL1, and its intracellular concentrations in neoplastic tissues are comparable. But, contrary to TCL1, MTCPI is monomeric in solution. We used site-directed mutagenesis on MTCPI to identify the critical residues that can restore the full binding affinity for Akt, with the aim of obtaining a high resolution NMR structure of the Akt-PHD:MTCPI complex. Finally, we have looked for others potential targets for TCL1 proteins. We found that TCL1 binds to I κ B α , the inhibitor of NF κ B, a transcription factor that activity of which is downstream regulated by Akt, with an affinity comparable to that of Akt when measured using ITC. Again, the affinity of I κ B α for MTCPI is significantly lower than for TCL1. We will discuss a low-resolution model of the complex between TCL1 and I κ B α built using SAXS data.

Affiche 10

Étude structurale d'assemblages macromoléculaires de grande taille par résonance magnétique nucléaire

R. Sounier, I. Ayala, P. Gans et J. Boisbouvier

Institut de Biologie Structurale; Université Joseph Fourier, CEA, CNRS ; 41 rue Jules Horowitz, F-38027 Grenoble cedex 1, France

Les méthodes standard pour la détermination de structure des macromolécules biologiques par RMN reposent principalement sur la détection d'effet Overhauser nucléaire entre deux protons séparés par moins de 6 Å. Nous avons développé une nouvelle stratégie permettant d'obtenir de nouvelles informations structurales entre protons très éloignés dans des protéines (Sounier et al., JACS 2007).

Notre approche repose sur la protonation spécifique : les protéines produites sont uniformément deutérées (> 98 %) sur tous les sites hydrogénés et protonées spécifiquement sur quelques méthyles (> 99 %) (Ayala et al., 2008). La combinaison de ce type d'échantillons à des expériences RMN optimisées, permet de détecter des informations angulaires et de distances entre des méthyles séparés par des distances allant jusqu'à 15 Å (Sounier et al., 2008a). Cette amélioration correspond à la détection d'effets de deux ordres de magnitude plus faible que ceux observés par les méthodes standard.

Nous avons démontré que ces contraintes de distances pouvaient se transposer à des systèmes de plus de 500 kDa (Sounier et al., 2008b). Nos résultats démontrent que cette nouvelle stratégie permet d'extraire des contraintes à longue portée entre protons dans les protéines avec une précision inégalée. Cette approche a été appliquée à la malate synthase G, une protéine modulaire de 82 kDa. L'introduction de quelques contraintes précises à longue portée améliore considérablement la précision et l'exactitude des modèles structuraux. Cette nouvelle méthode sera particulièrement utile pour les protéines allongées, et les assemblages macromoléculaires de grande taille.

**– Structure et dynamique des protéines
membranaires –**

Affiche 11**Homogeneous Time Resolved Fluorescence technique for study and imaging of membrane receptors oligomerization**

H. Bazin¹, T. Durroux⁴, F. Peyrusson¹, E. Lopez-Crapez², C. Larbouret³, A. Pèlegri³, M. Ychou² et G. Mathis¹

¹CIS bio, Research Dpt., 30204 Bagnols-sur-Cèze, ²Oncobiology Dpt., CRLC Val d'Aurelle-Paul Lamarque, 34298 Montpellier, ³Immunotargeting and Radiobiology in Oncology, UMR 860 INSERM - CRLC Val d'Aurelle-Paul Lamarque, 34298 Montpellier, ⁴Institut de Génomique Fonctionnelle, CNRS UMR5203, INSERM, U661, Montpellier

G protein-coupled receptors (GPCRs) and Tyrosine Kinase Receptors (TKRs) constitute the major screening targets for the pharmaceutical industry. The traditional approach being receptor ligand binding and receptor signaling assays (stimulation or inhibition of second messenger production, reporter gene approaches). The estimation of the receptor binding affinity is generally based on radioactive binding assays and requires the separation of the bound ligand fraction from the free one using a separation step as filtration. Similarly, the fluorescence intensity binding assays need the same separation steps. By contrast, fluorescent assays based on polarization or on fluorescence resonance energy transfer (FRET) are much simpler since they can be achieved without any separation of the bound and free ligand fractions. Lanthanide complexes as cryptates presenting long fluorescence lifetimes allow specific signals to be separated from nonspecific signals and make these fluoroprobes most convenient for homogeneous time-resolved fluorescence [1] (HTRF) which became a reference method in the domain of High Throughput Screening (HTS).

We have developed lanthanide or Alexa-labeled vasopressin and oxytocin receptors ligands analogues which keep high affinities for the receptors and are convenient to perform HTS using HTRF measurements [2]. We show that the HTRF methodology based on fluorescent ligand can be used to study receptors oligomerisation [3].

Similarly Tyrosine Kinase Receptors (TKRs) can be studied using HTRF and Time-Resolved Microscopy [4] can be used for receptors imaging.

[1] Bazin, H. *et al.*; Spectrochim Acta A **2001**, 57(11): 2197-211

[2] Albizu L. *et al.*; J Med Chem. **2007**, 50(20):4976-85.

[3] Maurel D. *et al.*; Nat Methods. **2008**, Jun;5(6):561-7.

[4] Ghose, S. *et al.*; Journal of Alloys and Compounds **2008**, 451: 35–37.

Affiche 12**Influence des amphiphiles sur les interactions et la cristallisation du complexe photosynthétique RC-LH1 de *Rhodobacter Blasticus***

F. Bonneté¹, P. Preira¹ et C. Jungas²

¹CINaM CNRS UPR 3118 campus de Luminy, case 913, 13288 Marseille cedex 9, ²UMR 6191, LBC, IBEB CEA Cadarache, 13115 Saint-Paul-lez-Durance

L'étude des protéines membranaires représente un déficit majeur de la biologie structurale. A ce jour, seule une centaine de structures protéiques membranaires a été résolue parmi les plus naturellement abondantes. En effet, la résolution structurale de ces protéines à l'échelle atomique se heurte à une cristallisation plus compliquée que celle des protéines solubles. Les protéines membranaires sont des systèmes non solubles dans les solutions habituellement utilisées pour les protéines solubles, et nécessitent l'emploi de détergents pour leur solubilisation, leur purification et leur manipulation. De plus, les structures résolues par diffraction des rayons X de certaines protéines membranaires montrent que des lipides endogènes peuvent rester liés à la protéine lors de la solubilisation. Si aucune rationalité n'a été décrite concernant l'utilisation des détergents dans les solutions de cristallisation, le rôle des lipides liés n'a pas non plus été éclairci.

Notre projet vise à étudier le rôle des amphiphiles sur l'association et la cristallisation des protéines membranaires en prenant comme modèle, le complexe photosynthétique RC-LH1-pufX de *Rhodobacter blasticus*. Nous avons abordé la cristallisation par l'étude des forces d'interaction entre complexes membranaires et micelles de détergents en utilisant des techniques de diffusion des rayonnements. Cette approche déjà utilisée avec succès avec les protéines solubles permet de mieux caractériser les diagrammes de phases nécessaires au contrôle de la croissance cristalline et à l'amélioration des cristaux.

Nous avons également caractérisé les lipides endogènes liés au complexe à différents taux de DDM lors de la solubilisation. Il semble en effet, qu'un excès ou un déficit de lipides constituerait une entrave entre les différents contacts hydrophobes nécessaires à l'obtention de cristaux de très bonne qualité. Pour les complexes RC-LH1-pufX, cette étude pourrait par ailleurs nous permettre d'améliorer la résolution des cristaux déjà obtenus (8-10 Å) et proposer ainsi une structure à haute résolution.

Affiche 13**Propriétés structurales et fonctionnelles des complexes bactériorhodopsine/Amphipols en solution**

Y. Gohon¹, T. Dahmane¹, R. Ruigrock², P. Schuck³, D. Charvolin¹, F. Rappaport¹, P. Timmins², D. Engelman³, C. Tribet¹, J.-L. Popot¹ et C. Ebel⁴

¹IBPC, ou ESPCI, Paris, France, ²UJF-EMBL-CNRS, ou ILL, Grenoble, France, ³NIH ou Université de Yale, USA,

⁴Institut de Biologie Structurale, Grenoble

Les protéines membranaires, qui peuvent comprendre une ou plusieurs chaînes polypeptidiques et des co-facteurs hydrophobes, doivent être extraites de la membrane lipidique pour la plupart des études *in vitro*. Ceci est fait à l'aide de détergents, qui se lient à la place des lipides à la surface transmembranaires des protéines, et les rendent solubles. L'effet dissociant des détergents peut être difficile à contrôler, ce qui entraîne la déstabilisation et l'inactivation irréversible des protéines solubilisées. Ceci a motivé la recherche de nouvelles molécules tensio-actives, tels les polymères amphiphiles (amphipol, APol), développés par Jean-Luc Popot (IBPC) et Christophe Tribet (ESPCI) (PNAS 1996). Les APols possèdent un squelette hydrophile sur lequel sont greffées de nombreuses chaînes hydrophobes. Nous avons caractérisé la protéine membranaire bactériorhodopsine (BR) solubilisé par un amphipol dérivé du polyacrylate, le A8-35, et montré qu'en absence de détergent, elle reste soluble dans son état natif pendant des mois. La BR en complexe avec le A8-35 accomplit un photocycle complet, avec des cinétiques intermédiaires entre celles en solutions de détergent et celles dans la membrane native. Le complexe consiste en des particules globulaires, comprenant un monomère de BR, le jeu complet des lipides de la membrane pourpre, et, dans une distribution périphérique, arrangés en une couche compacte, ~2 grammes d'APol par gramme de BR. En absence de APol libre, les particules de BR/APol peuvent s'auto-associer en de petites ou grandes fibrilles ordonnées. Cette étude démontre les fortes potentialités des amphipols pour l'étude structurale et fonctionnelle des protéines membranaires (Gohon et al., *Biophys. J.* (2008) 94, 3523-37).

Affiche 14**Étude de la Structuration et du comportement d'un complexe modèle peptide membranaire - détergents par simulations de dynamique moléculaire**

J. Khao, J.-P. Duneau et J. Sturgis

CNRS, IBSM, Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Macromoléculaires UPR 9022

Les protéines membranaires ont une importance considérable, aussi bien d'un point de vue protéomique que d'un point de vue fonctionnel. Leur solubilisation dans des micelles de détergents, systèmes simulant l'environnement transmembranaire, est une étape essentielle dans le processus de leur étude structurale et fonctionnelle. Le choix des détergents se base largement sur des approches empiriques et la nature des complexes formés avec les protéines reste relativement peu connue.

Afin de mieux comprendre l'organisation de tels complexes, nous avons réalisé des simulations de dynamiques moléculaires sur un système modèle composé de l'hélice α transmembranaire de la Glycophorine A (GpA) et de détergents (di-hexanoyl-phosphatidyl-choline). Des études d'interactions entre les différents éléments de notre système, ainsi qu'une étude de la dynamique des détergents nous ont permis d'observer une structuration du complexe sous la forme d'une bicouche, et d'identifier des comportements distincts en rapport avec les faces de l'hélice. L'interface d'homodimerisation de la GpA qui contient le motif « GxxxG » n'interagit que très faiblement avec les détergents, ceux-ci vont alors s'adapter de façon à maximiser leur propre cohésion. L'étude des faces a notamment révélé que la topologie du peptide (creux, arêtes, bosses) serait un facteur déterminant dans la structuration du complexe.

La compréhension du fonctionnement d'un tel système permet de rationaliser les phénomènes mis en jeu lors de la solubilisation des protéines membranaires et d'expliquer la modulation des interactions entre segments transmembranaires par l'environnement.

Affiche 15**High-resolution AFM in biological research and as a medical nano-imaging tool**S. Mangelot^{1,2}, N. Buzhynskyy² et S. Scheuring²¹Université Paris-Sud, 15 Rue Georges Clémenceau, 91405 Orsay cedex, France, ²Institut Curie, Equipe INSERM Avenir, UMR168-CNRS, 26 Rue d'Ulm, 75248 Paris Cedex 05, France.

The atomic force microscope (AFM) has become a powerful tool in structural biology allowing the investigation of biological samples under native-like conditions: experiments are performed in physiological buffer at room temperature and under normal pressure. Topographies of membrane proteins can be acquired at a lateral resolution of $\sim 10\text{\AA}$ and a vertical resolution of $\sim 1\text{\AA}$. Importantly, the AFM features an extraordinary signal-to-noise ratio allowing imaging of individual membrane proteins in prokaryotic and eukaryotic native membranes that participate in supramolecular assemblies.

Imaging techniques in medicine are important for our understanding of pathologies and potential development of cure approaches. It is now clear that many pathologies are based on molecular disorders. Therefore techniques capable to image at a resolution sufficient to observe single molecules and better must be developed and adapted for medical issues. Membrane proteins are involved in many vital processes and their malfunctions often have a serious impact on an organisms state. Nowadays, AFM is a recognized technique able to reveal the structure of supramolecular assemblies of membrane proteins. Using AFM as a medical nano-imaging tool, we imaged healthy and cataract affected eye lens membranes at unprecedented resolution. Crucial differences in organization of the two membrane proteins, aquaporin-0 and connexin, are distinguished between healthy and pathological cases.

Affiche 16**The full-length mu-opioid receptor: a conformational study by circular dichroism in trifluoroethanol and membrane-mimetic environments**I. Muller, V. Sarramégnna, M. Renault, V. Lafaquière, S. Sebai, A. Milon et F. Talmont

Centre National de la Recherche Scientifique-Université de Toulouse-Institut de pharmacologie et de biologie structurale-UMR 5089-205 route de Narbonne-31077 Toulouse

The secondary structure content of the recombinant human mu-opioid receptor (HuMOR) solubilized in trifluoroethanol and in detergent micelles was investigated by circular dichroism. In both conditions, this G-protein coupled receptor adopts a characteristic α -helical content, with minima at 208 and 222 nm as observed in the circular dichroism spectra. After deconvolution of spectra, the α -helix contents were estimated to be in the range of 50% in TFE and in SDS at pH6. These contents are in accordance with the predicted secondary structure content determined for the mu-opioid receptor. A pH-dependent effect was observed on the secondary structure of the receptor solubilized in detergents which demonstrate the essential role of ionic and hydrophobic interactions on the secondary structure. CD spectra of EGFP-HuMOR, a fusion protein between the enhanced green fluorescent protein (EGFP) and the mu-opioid receptor, and EGFP solubilized in TFE were also analysed as part of this study.

Affiche 17**The full-length mu-opioid receptor: a conformational study by circular dichroism in trifluoroethanol and membrane-mimetic environments**

I. Muller¹, V. Sarramégn², M. Renault¹, V. Lafaquière¹, S. Sebai¹, A. Milon¹ et F. Talmont¹

¹Centre National de la Recherche Scientifique. Université de Toulouse. Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale, UMR 5089, 205 route de Narbonne, 31077 Toulouse cedex 4, France, ²Unité de Recherche « Mécanismes Adaptatifs et Biomolécules des plantes endémiques de Mélanésie » (MABIOM). Université de la Nouvelle Calédonie, BP R4- 98851 Nouméa cedex, Nouvelle-Calédonie

The secondary structure content of the recombinant human mu-opioid receptor (HuMOR) solubilized in trifluoroethanol and in detergent micelles was investigated by circular dichroism. In both conditions, this G-protein coupled receptor adopts a characteristic α -helical content, with minima at 208 and 222 nm as observed in the circular dichroism spectra. After deconvolution of spectra, the α -helix contents were estimated to be in the range of 50% in TFE and in SDS at pH6. These contents are in accordance with the predicted secondary structure content determined for the mu-opioid receptor. A pH-dependent effect was observed on the secondary structure of the receptor solubilized in detergents which demonstrate the essential role of ionic and hydrophobic interactions on the secondary structure. CD spectra of EGFP-HuMOR, a fusion protein between the enhanced green fluorescent protein (EGFP) and the mu-opioid receptor, and EGFP solubilized in TFE were also analysed as part of this study.

Affiche 18**Analysis of transmembrane helices in protein structures**

J. Pylouster^{1,2}, A. Bornot¹, C. Etchebest¹ et A. de Brevern¹

¹INSERM UMR-S 726, Equipe de Bioinformatique Génomique et Moléculaire, DSIMB, Université Denis Diderot Paris 7, Institut National de Transfusion Sanguine, 6 rue Alexandre Cabanel, 75739 Paris, ²MNHN – UMR CNRS INSERM 5153, Régulation et dynamique des génomes, Laboratoire de Biophysique, 43 rue Cuvier, 75231 Paris cedex 05

Transmembrane proteins (TM) play a crucial biological role and are implied in numerous serious illnesses. Unfortunately, the specific environment, where they are embedded, limits the obtention of their 3D structures. Therefore the design of structural models is a major axis of research particularly for TMs proteins composed mainly of α -helices. In the present work, we have studied the influence of the secondary structures assignment methods (SSAMs) for this protein class. A non-redundant benchmark databank of TMP α is used and several SSAMs (9) are evaluated. Then the sequence-structure relationship (SSR) observed in TMP α is extracted. The consequence of the different assignments that could provide different SSR, is evaluated on a simple prediction method. Analysis of the different structure assignments of TM proteins points out discrepancies already observed on globular proteins. On average more than 10% of disagreement is observed between 2 distinct methods. Nonetheless, helical regions corresponding to transmembrane zones are found by all automatic assignment methods. Inversely, the sequence - structure relationship is almost independent on the assignment method. A simple statistical approach based on Bayes' rule makes possible to evaluate easily the predictive power relative to each assignment. Secondary structure prediction rates using only single sequence are within a range from 78 to 81%. A structural alphabet approach gives a slight better prediction. Interestingly the original assignment of the benchmark dataset, which does not correspond to any available SSAM, presents some difference on the SSR and its prediction rate bypasses 86%. Surprisingly, this last result highlights the importance of the correct assignment choice to evaluate the prediction assessment.

Affiche 19

Orientation et dynamique de protéines transmembranaires - Étude préliminaire d'un peptide modèle : WALP 23

L. Rougier¹, V. Réat², F. Jolibois¹, A. Milon², O. Saurel² et J. Czaplicki²

¹Laboratoire de Physique et Chimie de Nano-Objets, ²Laboratoire RMN et Interaction Protéine-membrane

Les protéines membranaires occupent une part importante de l'activité générale des cellules du vivant. De nombreuses études ont déjà été menées sur le sujet au niveau macroscopique, néanmoins, à l'échelle atomique, ces phénomènes restent encore assez peu connus.

La majorité des protéines transmembranaires possède un ou plusieurs segments hydrophobes. En général, ces segments ont une conformation en hélice alpha et sont constitués de 20 à 25 acides aminés, substitués aux extrémités par des résidus polaires ou aromatiques.

Lorsque la longueur du segment hydrophobe dépasse celle de l'épaisseur de la bicouche lipidique, le mésappariement positif entre la membrane et la protéine induit un tilt de cette dernière ayant pour effet de réduire les interactions polaires/apolaires. Notre objectif est de décrire cette inclinaison en prenant en compte les effets de la dynamique des protéines. Nous utilisons un peptide modèle constitué de 23 acides aminés (WALP 23). Nous menons des études de RMN (théorique et expérimentale) sur WALP 23 afin d'obtenir un certain nombre de paramètres:

- anisotropie de déplacement chimique (CSA), statique et dynamique ¹³C et ¹⁵N
- l'orientation des tenseurs de déplacements chimiques ¹³C et ¹⁵N
- couplages dipolaires ¹³C - ¹⁵N
- éclatement quadripolaires ⁽¹⁾

Nous utilisons donc les approches théorique et expérimentale de façon complémentaire pour décrire au mieux l'orientation et la dynamique du peptide dans la membrane ⁽²⁾. La partie théorique nous donne l'orientation des tenseurs de déplacements chimiques ainsi que les CSA statiques, la partie expérimentale, quant à elle, nous permet d'obtenir les CSA (statiques et dynamiques), les couplages dipolaires ainsi que les éclatements quadripolaires.

1 Ozdirekcan, S.; Rijkers, D. T. S.; Liskamp, R. M. J.; Killian, J. A., *Biochemistry* **2005**, 44, (3), 1004-1012.

2 Soubias, O.; Jolibois, F.; Milon, A.; Réat, V., *Biophysical Journal* **2005**, 89, 1120-1131.

**– Structure et dynamique des protéines
solubles –**

Affiche 20**Suivre les transitions structurales dans les protéines désordonnées: approche pas marquage paramagnétique et spectroscopie RPE**V. Belle¹, S. Rouger², S. Costanzo², J. Stancar³, S. Longhi², A. Fournel¹ et B. Guigliarelli¹

¹Bioénergétique et Ingénierie des protéines, BIP-UPR 9036, CNRS et Aix-Marseille Universités, 31 Chemin J. Aiguier, 13402 Marseille, ²Architecture et fonction des macromolécules biologiques, AFMB-UMR 6098, CNRS et Aix-Marseille Universités, avenue de Luminy, 13288 Marseille, ³Laboratory of biophysics, “Joseph Stefan” institute, Ljubljana, Slovenia

Les protéines intrinsèquement désordonnées (IDP) remplissent des fonctions essentielles bien qu'elle soient dépourvues de structures secondaires et tertiaires stables dans les conditions physiologiques. La plupart subissent une transition désordre/ordre lors de l'interaction avec un partenaire (repliement induit) et la compréhension du rôle fonctionnel de ce désordre structural représente un intérêt majeur (1). L'insertion de sondes paramagnétiques dans la chaîne polypeptidique et l'analyse de leur mobilité par spectroscopie RPE s'est révélée être une technique très efficace pour le suivi des propriétés structurales des IDP (2,3).

Nous montrerons ici comment cette approche a permis d'étudier en détail le repliement induit du domaine C-terminal (*N-tail*) intrinsèquement désordonné de la nucléoprotéine du virus de la rougeole lors de son interaction avec la phosphoprotéine (*XD*) virale. Une série de mutants de *N-tail* ont été préparés pour insérer un marqueur paramagnétique dans des positions réparties tout au long de la chaîne peptidique, et en chaque position la dynamique de la sonde a été analysée par spectroscopie RPE. Les résultats permettent de cartographier précisément le gain de rigidité de *N-tail* lors de l'interaction avec le partenaire *XD* et révèle un repliement induit en hélice α de la région 488-502. L'influence d'agent de stabilisation de structure secondaire (2,2,2-trifluoroéthanol) a également été examinée, et une analyse fine montre que même en absence de partenaire, cette région est partiellement contrainte, ce qui peut être interprété par l'existence d'états structurés transitoirement peuplés. L'ensemble des données de RPE permet de proposer un modèle cohérent de la transition structurale de *N-tail* lors de l'interaction entre les deux partenaires (4).

Affiche 21**Ligand recognition by the energy-sensor domain of the catabolite repressor protein CcpN**D. Chaix¹, K. Leguilhem¹, D. Le Coq², S. Zorrilla^{1,3}, S. Aymerich², C. Royer¹, S. Arold¹ et N. Declerck¹

¹CBS, INSERM-U554, CNRS-UMR5048, 34090 Montpellier, ²MGM, INRA-UMR1238, 78850 Thiverval-Grignon, ³CIB, CSIC, Madrid

CcpN is a newly identified transcriptional repressor involved in the regulation of the metabolic carbon flux in *Bacillus subtilis*. Under glycolytic conditions of cell growth, CcpN prevents the expression of the *gapB* and *pckA* genes, encoding key enzymes of neoglucogenesis. This repressor is composed of an N-terminal Helix-Turn-Helix motif forming the DNA binding domain, followed by two CBS domains forming the regulatory domain. CBS domains are found in a wide variety of prokaryotic and eukaryotic proteins where they have been proposed to be involved in sensing the cellular energy level through the binding of AMP, ADP and/or ATP. We have undertaken the structural and functional analysis of CcpN in order to determine the molecular basis of its control mechanism. We have solved the crystal structures of the regulatory domain (rd-CcpN), alone and in complex with different adenosine nucleotides. The affinity and specificity of nucleotide binding by rd-CcpN was investigated by NMR foot-printing and Saturation Transfer Difference (STD). No important changes in the tertiary or quaternary structure of the protein could be detected upon ligand binding, as deduced from light or X-ray scattering, limited proteolysis or cross-linking experiments. Mutations in the ligand binding site lead to a loss of repressor activity in vivo, without altering the protein structural integrity.

Affiche 22**Étude du mécanisme de l'urate oxydase : mise en évidence de l'oxygène et de différents intermédiaires réactionnels**

N. Colloc'h¹, L. Gabison², G. Monard³, G. Marassio¹, M. Chiadmi², M. El Hajji⁴, B. Castro⁴, J. H. Abraini¹ et T. Prangé²

¹Equipe de Neuropharmacologie Fonctionnelle, CI-NAPS UMR6232 - UCBN-CNRS-CEA, GIP-Cyceron, Bd Becquerel, 14074 Caen, ²LCRB, UMR CNRS 8015, Faculté de Pharmacie, 75270 Paris, ³ECBT – UMR 7565 – Université Henri Poincaré, 54506 Vandœuvre-les-Nancy, ⁴Sanofi-Aventis Recherche & Développement, 34184 Montpellier

Pour élucider le mécanisme catalytique original de l'urate oxydase qui ne fait intervenir ni cofacteur, ni ion métallique, et identifier les différents intermédiaires réactionnels, nous avons déterminé de nombreuses structures cristallographiques de complexes de l'enzyme avec différents ligands.

Cette enzyme catalyse en présence d'oxygène moléculaire l'hydroxylation de l'acide urique en 5-hydroxyisourate, par la suite transformé en S-allantoïne par une cascade enzymatique.

La structure du complexe enzyme / acide urique cristallisé en anaérobiose a permis d'identifier le dianion urate [N3⁻N7⁻] généré par l'enzyme.

La détermination des structures de complexes urate oxydase / 8-azaxanthine ou xanthine sous pression d'oxygène a permis de visualiser la molécule d'oxygène dans le site actif (Colloc'h *et al.*, *Biophys. J.*, 2008), dans une position idéale pour oxyder le dianion.

L'intermédiaire dehydrourate a été observé dans la structure de l'enzyme en présence d'acide urique et de cyanure, ce dernier inhibant la réaction d'hydroxylation qui suit celle d'oxydation (Gabison *et al.*, *BMC Struc. Biol.*, sous presse). Un composé du même type a été observé avec la structure du complexe urate oxydase / 9-méthyl acide urique sous pression d'oxygène.

Les différentes structures résolues ont également permis d'identifier deux molécules d'eau impliquées dans l'étape d'hydroxylation menant au produit final, le 5-hydroxyisourate.

Nos résultats remettent en cause un mécanisme proposé auparavant sur des bases spectroscopiques qui faisait intervenir un intermédiaire de type hydroperoxy. Nous proposons donc un nouveau mécanisme, qui est en accord avec les différentes structures résolues.

Affiche 23**Calmodulin Interactors : tools for studying calcium signal**

R. Dagher, D. Bonnet, P. Villa, M. Hibert, M.-C. Kilhoffer, C. Pigault et J. Haiech

Université Louis-Pasteur, Strasbourg I, Faculté de Pharmacie, UMR-CNRS 7175, Équipe : Chimio-génomique et Pharmacogénomique 74, route du Rhin, 67401 Illkirch, France

Calmodulin (CaM) is the primary Ca²⁺-sensor in all eukaryotic cells that interprets the calcium signal, modulates the activities of many target proteins. It's a prototypical protein of induced fit that exhibits multiple conformational states for its target recognition.

There is, however, limited understanding of how ligand-multisite protein interactions selectivity regulate the activities of multiple protein targets.

Our aim is to provide CaM's small interacting well characterized molecules that can be used as research tools for dissecting CaM-protein interactions and studying calcium signal.

Along this way, we have developed a screening assay for soluble proteins by using fluorescence polarization (FP), a simple and direct tool to study association equilibrium when free- and bound- implicated species have different rotational diffusions.

The FP-screening of a fluorescent chemical library (1328 compounds) with CaM permits us to select four fluorescent non-selective probes. Their binding to CaM, as function of Ca²⁺ concentration, has been characterized by FP-titration with electrostatic mutants.

These probes were then used in FP-competitive screening assay to detect small specific molecules from the Strasbourg Academic Library (5920 compounds). Binding to CaM of these small molecules was confirmed by FP-displacement titration curves that show a different displacement curve profiles and suggest a differential binding classes of molecules with a given CaM conformations illustrating a conformational CaM-plasticity in its target binding.

Our results may lead to differential disruption of the interaction between CaM and target enzymes using different small molecules, therefore providing research tools in deciphering Ca²⁺/CaM signaling.

Affiche 24**Mécanismes de réduction des ponts disulfure dans le lysozyme révélés par spectroscopie Raman et calcul moléculaire**C. David, S. Foley et M. Enescu

Laboratoire de Chimie Physique et Rayonnement Alain Chambaudet, UMR E4 CEA, Université de Franche-Comté, 16 route de GRAY, 25030 Besançon cedex

L'étude de la réactivité des ponts disulfure S-S des protéine est essentiel pour la compréhension des mécanismes de repliement-dépliement de la structure protéique. Ayant un pont exposé au solvant et trois autres enveloppés, la lysozyme représente un bon model pour l'étude de la réduction des ponts S-S natifs des protéines. Nous avons analysé le mécanisme de réduction de la lysozyme par le TCEP en utilisant la spectroscopie Raman et les méthodes de calcul moléculaire. Notre méthode nous a permis de détecter les modifications de la bande de vibration S-S directement liées à l'avancement de la réaction. D'autre part l'évolution de la bande Raman amide I indique le niveau de dépliement de la protéine qui suit la réduction des ponts. La cinétique de réaction, suivie dans la bande S-S, montre que parmi les quatre ponts de la protéine l'un a une réactivité (constante de vitesse de réaction $k_1 = 112.0 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) largement supérieure aux autres ($k_2 = 13.0 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$). L'analyse de la bande amide indique que la structure secondaire de la lysozyme n'est que faiblement modifiée après la coupure de trois ponts. Les calculs *ab initio* sur des systèmes modèle indiquent que tous les ponts S-S doivent être réactifs en réaction avec le TCEP, en accord avec les résultats expérimentaux. Des calculs de dynamique moléculaire sont en cours afin d'analyser plus en détail les effets conformationnels de la coupure de ponts dans la protéine.

Affiche 25**Étude structurale du complexe de méthylation en m7G des ARN de transfert dans la levure par cristallographie et diffusion des rayons-X en solution**D. Durand, N. Leulliot, M. Chaillet, N. Ulryck, K. Blondeau et H. van Tilbeurgh

Institut de Biochimie et de Biophysique Moléculaire et Cellulaire, UMR8619, Bât 430, Université de Paris-Sud, 91405 Orsay

La perte de la méthylation sur l'azote 7 de résidus guanosine est impliquée dans la voie de dégradation rapide des tARN récemment découverte. Dans la levure, cette modification est catalysée par le complexe de la sous-unité catalytique Trm8 et de la sous-unité Trm82. Nous avons résolu la structure cristallographique de Trm8 seul et complexée avec Trm82. Suite à la fixation de Trm82, de subtils changements de la conformation de Trm8 sont observés qui explique la nécessité de la présence de Trm82 pour l'activité. La structure cristallographique du complexe avec le donneur de méthyle S-adenosyl-méthionine permet de définir le site catalytique potentiel et une poche de fixation de la guanine. Des mesures de diffusion des rayons-X aux petits angles ont été effectuées sur l'instrument Nanostar utilisant le faisceau d'un générateur à anode tournante Microstar disponible au laboratoire. L'analyse des données obtenues a permis de proposer un modèle à basse résolution pour le complexe ternaire avec le tARNPhe qui définit le mode de fixation du tARN sur le dimère Trm8-Trm82 et les éléments structuraux contribuant à la spécificité.

Affiche 26

Dénaturation thermique d'un système oligomérique « hors équilibre » : la C-phycoyanineG. Gibrat¹, C. Paris³, M. Desmadril² et S. Combet¹¹Laboratoire Léon-Brillouin, UMR 12 CEA/CNRS CEA/Saclay 91191 Gif-sur-Yvette CEDEX, ²Institut de Biochimie et Biophysique Moléculaire et Cellulaire d'Orsay, Bât 430 CNRS/Université Paris-Sud 91405 Orsay, ³Laboratoire BIOMO-CETI, UMR 7033 CNRS/Université Paris 6/Université Paris 13 74, rue Marcel Cachin 93000 Bobigny

L'ensemble des processus conduisant à la dénaturation d'une protéine implique le dépliement de ses structures secondaire et tertiaire. Dans le cas d'une protéine oligomérique, la perte de la structure quaternaire est également à considérer. Cependant, cette étape est difficilement accessible car les constantes de dissociation des oligomères sont généralement du même ordre de grandeur que celles impliquées dans le dépliement des sous-unités. Il est donc intéressant de pouvoir étudier une telle étape, qui permet également de mieux comprendre les phénomènes d'association/agrégation des protéines, comme dans le cas de la formation de fibres amyloïdes.

La C-phycoyanine (C-PC), protéine des antennes réceptrices de lumière chez les cyanobactéries, est constituée de chaînes α et β formant des hétérodimères $\alpha\beta$ qui s'associent *in vivo* et *in vitro* en trimères $(\alpha\beta)_3$ et en hexamères $(\alpha\beta)_6$. Nous avons observé qu'au cours de la dénaturation thermique, la C-PC n'est pas à l'équilibre thermodynamique. Nous avons trouvé des conditions physico-chimiques pour montrer, par spectrophotométrie d'absorption, dichroïsme circulaire et diffusion de neutrons aux petits angles, les différentes séquences de la dénaturation de la C-PC: les oligomères se dissocient d'abord en monomères $\alpha\beta$, avec des constantes de temps de l'ordre de grandeur des durées expérimentales (plusieurs heures); les hélices des sous-unités α et β se déplient ensuite.

Nous avons utilisé un spectrophotomètre d'absorption permettant des rampes très bien contrôlées en température afin de mieux quantifier les états intermédiaires de la dénaturation thermique de la C-PC, ainsi que sa « réversibilité ». Des mesures de microcalorimétrie complètent ces données.

Affiche 27

Structural insights into the interaction of jasmonic acid with lipid transfer protein: involvement in systemic acquired resistanceJ. Gruszczyk^{1,2}, B. Legrand^{1,3}, V. Piller¹, M. Ponchet⁴, C. Damblon¹, F. Vovelle¹ et C. Landon¹¹Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS UPR4301 Orléans, France, ²present address : Laboratoire d'Enzymologie et Biochimie Structurales, CNRS UPR 3082, Gif-sur-Yvette, France, ³Present address : Interactions Cellulaires et Moléculaires, CNRS UMR6026, Rennes, France, ⁴Interactions Biotiques et Santé Végétale, INRA, Sophia Antipolis, France

Plant Lipid Transfer Proteins (LTPs) are small basic proteins with four disulfide bridges. They facilitate the transfer of phospholipids between a donor and an acceptor membrane *in vitro* but their biological function *in vivo* remains unclear. They could be involved in cutin biosynthesis, pathogen defence and/or as modulator in plant growth and development. Recently, a function in defensive signalling was evidenced for a wheat LTP1 which is able to compete with elicitors on their tobacco plasma membrane receptor¹.

Elicitors are small cysteine-rich proteins secreted by the phytopathogenic oomycetes *Phytophthora* and *Pythium* species, that specifically bind sterols. Sterol bound elicitors are able to trigger a hypersensitive response (HR) associated to a systemic acquired resistance (SAR) in tobacco.

Free tobacco LTP1_1 and its complex with various lipids (in particular jasmonic acid JA) are able to bind to elicitor plasma membrane sites¹, but only LTP1_1 in complex with JA is able to elicit the plant response and to induce long distance protection against *P. parasitica* as sterol-elicitor complexes. This suggests that the formation of the JA-LTP1_1 complex may result in a conformational change facilitating the recognition by the not yet identified high affinity site.

In order to confirm/infirm such a hypothesis, we have determined the solution structure and dynamics of the free tobacco LTP1_1^{2,3}, and of its complex with JA⁴. We analysed structural changes between free and bound forms, modifications of the local dynamics, and differences in the electrostatic or hydrophobic surface properties⁴.

1. Buhot et al. (2004) *Mol Biol Cell* 15:5047-5052.

2. Da Silva et al. (2005) *Proteins* 59:356-367.

3. Da Silva et al. (2006) *Proteins* 64:124-132.

4. This work, to be published

Affiche 28**Étude biophysique de l'interaction entre l'alpha hémoglobine et son chaperon moléculaire, l'AHSP**D. Hamdane¹, V. Baudin-Creuzat², C. Vasseur², G. Hui-Bon-Hoa² et M. Marden²¹Laboratoire d'Enzymologie et Biochimie Structurales, UPR 3082 CNRS - Bât. 34, 91198 Gif-sur-Yvette cedex,²INSERM U779 Hôpital de Bicêtre / Bat. Broca, Niveau 3, 78 rue du Général Leclerc, 94275 Le Kremlin-Bicêtre

L'Alpha-Hemoglobin-Stabilizing Protein (AHSP) est synthétisée en quantité importante dans les précurseurs érythroïdes et se lie spécifiquement à l'alpha-hémoglobine (alpha-Hb) pour former un hétérodimère stable (Kihm et al, Nature 2002, 417, 758). L'AHSP évite ainsi la précipitation des chaînes alpha libres en hémichromes, générateurs de radicaux libres à l'origine de lésions membranaires, d'apoptose prématurée et de beta-thalassémies. L'obtention de la structure 3D du complexe AHSP-alpha Hb a permis de définir les interactions moléculaires nécessaires à la stabilisation du complexe. Il a aussi été observé que la fixation de l'AHSP à l'alpha-Hb induisait une reconfiguration très importante de la poche de l'hème (Feng et al, Cell 2004, 119, 629).

Nous avons caractérisé les propriétés biophysiques de l'interaction AHSP/alpha-Hb. Nos études de spectroscopie visible couplées à la haute pression ont montré qu'en présence d'AHSP, l'alpha-Hb se trouve dans un nouvel état conformationnel plus flexible. Le cycle de pressurisation induit une précipitation irréversible des chaînes alpha-Hb suite à la formation d'hémichromes tandis qu'en présence d'AHSP, le processus est totalement réversible (Hamdane et al., JBC, 2007, 282, 6398). Les cinétiques rapides de fixation des ligands diatomiques en fonction de la pression hydrostatique de l'alpha-Hb libre et de l'alpha-Hb/AHSP sont identiques. Cela permet d'établir que la chaperone ne change pas l'étape limitante dans la réaction de fixation des ligands à l'alpha-Hb. Ainsi l'AHSP jouerait le rôle de chaperon moléculaire en modulant la plasticité de l'alpha-Hb ainsi que la flexibilité de la poche de l'hème.

Affiche 29**La phosphoglycérate kinase: une enzyme du métabolisme de pro-drogues antivirales spécifique et ambidextre**P. Lallemand¹, L. Chaloin¹, S. Arold², C. Gondeau¹, B. Roy³, C. Périgaud³, T. Barman¹ et C. Lionne¹¹UMR5236, CPBS, ²UMR5048, CBS, ³UMR5247, IBMM, Montpellier

De nombreux analogues de nucléosides sont utilisés en thérapies antivirales et anticancéreuses. Ce sont des pro-drogues qui sont administrées aux patients sous forme nucléosidique pour franchir les membranes cytoplasmiques. Dans les cellules, elles nécessitent donc 3 étapes séquentielles de phosphorylation pour aboutir aux métabolites triphosphates, seuls capables d'exercer l'activité pharmacologique (terminateurs précoces de chaîne). Parmi ces analogues nucléosidiques, ceux de type L (image miroir du type D) sont souvent plus efficaces et moins toxiques que leurs homologues de type D (configuration des nucléosides naturels). A titre d'exemples, la lamivudine et l'emtricitabine sont utilisés dans le traitement du sida. Considérant la diversité de ce type de pro-drogues utilisé en thérapies antivirales et anticancéreuses ou en cours de tests, il semble important de mieux comprendre leur mécanisme de phosphorylation. La conversion des analogues de nucléosides diphosphates en triphosphates par les différentes kinases cellulaires reste largement inexplorée. Pourtant cette dernière étape de phosphorylation est d'un grand intérêt puisque certaines pro-drogues s'accumulent dans la cellule sous forme de diphosphates (NDP), indiquant une inefficacité des kinases impliquées. Il semble que les NDP de type L soient phosphorylés préférentiellement par la phosphoglycérate kinase humaine, une enzyme de la glycolyse. Sa spécificité vis-à-vis de NDP puriques ou pyrimidiques en configuration D ou L a été étudiée et la structure cristalline des différents complexes a été résolue. Ceci constitue désormais une base structurale solide pour la prédiction de l'efficacité de phosphorylation par la PGK de nouveaux analogues à visée thérapeutique.

Affiche 30**Étude de la conformation de la PBP1b de *S. pneumoniae* par diffusion des rayons-X en solution**P. Machebœuf^{1,4}, A. Dessen^{1,4}, M. Piuizzi², F. Bontems², J. Pérez³ et P. Vachette¹¹Institut de Biochimie et de Biophysique Moléculaire et Cellulaire, UMR8619, Bât 430, Université de Paris-Sud, 91405 Orsay, ²CNRS, Antenne de l'ICSN (UPR2301) à l'École Polytechnique, École Polytechnique, 91128 Palaiseau,³Synchrotron SOLEIL, L'Orme des Merisiers, BP48 Saint-Aubin, 91192 Gif-sur-Yvette, ⁴Institut de Biologie Structurale Jean-Pierre Ebel, UMR 5075, CEA, CNRS, 41 Rue Jules Horowitz, 38027 Grenoble

La protéine PBP1b de *S. pneumoniae* fait partie des protéines fixant la pénicilline de classe A. Elle comprend un domaine Transpeptidase (TP) dont la structure cristallographique est connue et un domaine glycosyltransferase de structure inconnue. Des mesures de diffusion des rayons-X (ID02) ont été enregistrées sur l'instrument ID02 de l'ESRF (collaboration avec S. Finet). L'analyse des données obtenues a permis de définir une enveloppe à basse résolution de la protéine complète à l'aide du programme Dammin. Nous avons ensuite modélisé *ab initio* le domaine GT par une chaîne de pseudo-résidus complétant le domaine TP déjà connu (programme Bunch. Nous avons enfin positionné un modèle par homologie de GT en utilisant un programme de modélisation en blocs rigides (Sasref) suivi d'un ajustement des séquences de liaison entre les deux domaines. Le même modèle par homologie a aussi été positionné à l'aide du programme Dadimodo modifié pour permettre cette opération en jouant sur les paramètres internes de la molécule (angles ϕ et ψ de la chaîne principale). Nous présentons la comparaison des résultats de ces deux approches.

Affiche 31**Effets de l'oxydation radio-induite sur le répresseur de l'opéron lactose. Étude par simulation de dynamique moléculaire**

S. Mazier, D. Genest et M. Spothem-Maurizot

Centre de Biophysique Moléculaire, UPR4301 du CNRS

Le répresseur de l'opéron lactose d'*E. Coli* est une protéine-clé pour la régulation de l'expression de gènes codant pour des enzymes impliquées dans le catabolisme du lactose. Cette protéine est un homotétramère (un dimère de dimères). Chaque monomère présente en N-terminal une région appelée la *headpiece* et en C-terminal, une région qui fait partie du *core* tétramérique du répresseur. Les *headpieces* constituent les domaines de fixation du répresseur à l'ADN. Chaque *headpiece* est constituée de trois hélices (résidus 6-13, 17-24 et 32-45). Lorsque le répresseur est irradié, la formation du complexe répresseur-opérateur diminue, probablement à cause de dommages radio-induits qui ont pu être déterminés par spectrométrie de masse. Ainsi il a été montré que toutes les tyrosines (7, 12, 17 et 47) étaient oxydées en DOPA suite à l'irradiation.

Le but de notre étude est de déterminer par simulation de dynamique moléculaire quelle(s) tyrosine(s) oxydée(s) a (ont) l'effet le plus déstructurant et déstabilisant sur la *headpiece*. Nous avons simulé 5 *headpieces* dans l'eau pendant 10 ns en présence d'un ion Cl^- : la *headpiece* native et quatre *headpieces* oxydées (portant l'oxydation sur la tyrosine 7 (Y7), 12 (Y12), 17 (Y17) et 47 (Y47) respectivement). Nous avons pu montrer que l'oxydation de la tyrosine 47 est celle qui perturbe le plus la structure de la *headpiece*. L'effet de l'oxydation sur la structure est beaucoup plus faible et identique pour les 3 autres tyrosines, n'excluant pas cependant une certaine déstabilisation de la protéine.

Des simulations d'un dimère de la *headpiece* lié à une double hélice d'ADN (actuellement en cours) nous permettront d'observer les répercussions de ces oxydations au niveau de la fixation à l'ADN.

Affiche 32**Mécanismes d'inactivation de prodrogues antivirales ou anticancéreuses : cas de la nucléotidase cytosolique II et élaboration de potentiels inhibiteurs**M. Meurillon¹, P. Lallemand², S. Peyrottes¹, C. Périgaud¹, C. Dumontet³, C. Lionne² et L. Chaloin²¹Equipe Nucléosides & Effecteurs Phosphorylés UMR 5247 CNRS-UM1-UM2 Université Montpellier 2, cc1705 place E. Bataillon F-34095 Montpellier cedex 5, ²Groupe de Biophysique & Bioinformatique Centre d'étude d'agents Pathogènes et Biotechnologies pour la Santé "CPBS" UMR 5236 - CNRS - UM1- UM2 Institut de Biologie 4 bld Henri IV 34965 Montpellier, ³Laboratoire de cytologie analytique - INSERM - U590 Faculté de médecine Rockefeller, Université Claude Bernard Lyon I F-69008 Lyon

Les analogues de nucléosides constituent une classe d'agents thérapeutiques particulièrement utilisée dans le traitement de cancers et d'infections virales, par exemple la Zidovudine (AZT) et la Lamivudine (3TC) comme anti-VIH. Leur mode d'action implique une métabolisation intracellulaire en leurs formes phosphorylées. Les analogues nucléotidiques résultants interfèrent avec la biosynthèse des acides nucléiques en jouant un rôle d'inhibiteurs et/ou de substrats pour les polymérases cellulaires ou virales. Cette dépendance métabolique constitue, généralement au niveau de la première étape de monophosphorylation, une limitation à l'activité biologique de cette famille médicamenteuse. Si l'absence d'activité d'analogues de nucléosides associée un défaut de phosphorylation par les kinases est un axe de recherche bien documenté, l'implication d'autres enzymes dont les nucléotidases reste à étudier. Ces enzymes, associées également à la régulation des pools de nucléotides endogènes, catalysent la déphosphorylation de certains analogues monophosphates utilisés en thérapie (dont l'AZT-MP). L'objectif de nos travaux est donc d'évaluer par la synthèse et l'étude d'inhibiteurs, la fonction cellulaire de certaines nucléotidases et d'évaluer leur implication potentielle dans l'émergence de résistances rencontrées lors de l'utilisation thérapeutique d'analogues de nucléosides. Ces inhibiteurs sont structurellement apparentés aux nucléosides 5'-monophosphates mais se caractérisent par un lien phosphoré chimiquement et enzymatiquement stable (phosphonates). Nous reporterons ici l'étude d'une première série de phosphonates vis à vis d'une nucléotidase purifiée ainsi que le criblage virtuel de chimiothèques et la recherche de pharmacophores basée sur deux complexes enzyme/inhibiteur.

Affiche 33**Caractérisation moléculaire et structurale de l'interaction entre la centrine humaine 2 et la protéine XPC impliquées dans le mécanisme de réparation par excision des nucléotides, NER**S. Miron¹, D. Duchambon¹, Y. Blouquit¹, J.-B. Charbonnier², M. H. Le Du², D. Durand³ et C. T. Craescu¹¹Laboratoire d'Imagerie Intégrative, INSERM U759/Institut Curie, Centre Universitaire Paris XI, Bâtiment 112, 91405 Orsay, ²Laboratoire de Biologie Structurale et Radiobiologie iBiTec-S, CEA, Commissariat à l'Energie Atomique, 91191 Gif-sur-Yvette, ³Institut de Biochimie et Biophysique Moléculaire et Cellulaire, CNRS UMR 8619, Université Paris-Sud, 91405 Orsay

La Réparation par Excision de Nucléotides (NER) est une voie de réparation de lésions encombrantes qui affectent un seul brin d'ADN, les plus caractéristiques étant celle induites par les rayons UV et les réactifs chimiques comme le cisplatine. Dans le NER, le site de l'ADN endommagé est reconnu par un complexe impliquant trois protéines: la xeroderma pigmentosum group C (XPC) (940 résidus), la hHR23B et la centrine 2 (HsCen2).

Nous avons exploré les propriétés structurales et moléculaires de l'interaction entre la XPC et la centrine 2. Par microcalorimétrie ITC nous avons montré une forte interaction, dépendante du calcium, entre le fragment C-terminal de la XPC (C-XPC : les 125 derniers résidus) et la région C-terminale de la centrine 2. Les études physico-chimiques et structurales (DC, SAXS, et RMN) ont montré que le fragment C-XPC est hautement flexible en solution, mais présente des éléments de structure secondaire de type hélice α , en accord avec les prédictions bioinformatiques. Le fragment C-XPC ne se structure pas en présence de la centrine [1]. L'interaction se limite à une vingtaine de résidus, autour d'un fragment peptidique P17-XPC (la séquence N847-R863) essentiel pour la liaison avec les centriques. La structure du complexe centrin/P17-XPC résolue par cristallographie [2] révèle un mode de liaison caractéristique pour les centriques, avec trois chaînes latérales hydrophobes du peptide P17-XPC (W848, L851, L855) profondément enfouies dans la poche hydrophobe du domaine C-terminal de la centrine. En utilisant différents peptides synthétiques et la microcalorimétrie nous avons montré que les résidus W848 et L851 sont critiques pour cette interaction, et qu'une séquence de seulement 5 résidus (P5-XPC: 847-851) présente une interaction significative avec la centrine.

[1] Miron, S., Duchambon, P., Blouquit, Y., Durand, D., Craescu, C.T. *Biochemistry* 47:1403-1413 (2008).[2] Charbonnier, J.B., Renaud, E., Miron, S., Le Du, M.H., Blouquit, Y., Duchambon, P., Christova, P., Shosheva, A., Rose, T., Angulo, J.F. and Craescu, C.T. *J. Mol. Biol.* 373(4):1032-46. (2007)

Affiche 34**Étude de l'influence de tanins sur la structuration d'une protéine salivaire riche en proline par dichroïsme circulaire**F. Pate^{1,2}, F. Canon¹, T. Marlin¹, H. Boze¹, P. Sarni-Manchado¹, M.-A. Delsuc² et V. Cheynier¹¹UMR Sciences pour l'Enologie, INRA, 2 Place Viala, 34060 Montpellier, France, ²Centre de biochimie Structurale, CNRS UMR 5048 - UM 1 - INSERM UMR 554, 29 rue de Navacelles, 34090 Montpellier, France

Les Protéines Riches en Proline (PRP) salivaires appartiennent à la famille des protéines peu structurées, ou Intrinsically Unfolded Proteins (IUP) et comportent des séquences répétées riches en proline, glycine et acide glutamique ou glutamine. Elles constituent 2/3 des protéines totales contenues dans la salive et sont connues pour précipiter les tanins, composés polyphénoliques présents dans les végétaux. Ces interactions, conduisant à la précipitation des tanins, seraient à l'origine de la sensation d'astringence perçue lors de l'ingestion de certains aliments. Du fait de leur faible structuration, les IUP n'ont été que peu étudiées en termes de structure et de dynamique. Cependant, des travaux récents ont montré que des interactions entre ce type de protéine et un ligand peuvent permettre un certain degré de structuration. Dans cette optique, nous avons étudié par dichroïsme circulaire (DC) l'effet de différents tanins avec une protéine salivaire riche en proline, IB5, sur la structuration de cette protéine. Ce travail préliminaire nous permet de déterminer les conditions optimales pour les études structurales ultérieures par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) et diffraction des rayons X à petits angles (SAXS). Pour les études par RMN, deux PRP marquées ¹⁵N, IB5 et II-1, ont été produites par voie recombinante chez *Pichia pastoris*. La production de ces protéines est suivie par électrophorèse et le contrôle de leur marquage est réalisée par l'analyse directe par RMN de prélèvement du surnageant de culture dans lequel elles sont excrétées.

Affiche 35**Étude par RMN des domaines N-terminaux des protéines PilB et DsbD issues de *Neisseria meningitidis***M. Quinternet¹, P. Tsan¹, L. Selme², C. Beaufils¹, M.-C. Averlant-Petit¹, S. Boschi-Muller², G. Branlant² et M.-T. Cung¹¹Laboratoire de Chimie-Physique Macromoléculaire, UMR CNRS-INPL 7568, ENSIC, Nancy-Université, 1 rue Grandville, B.P. 20451, 54001 Nancy Cedex, France., ²Laboratoire Maturation des ARN et Enzymologie Moléculaire, UMR CNRS-UHP 7567, Faculté des Sciences, Nancy-Université, Bld des Aiguillettes, B.P. 239, 54506 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex, France

Nous étudions la protéine PilB issue de la bactérie *Neisseria meningitidis*. Cette protéine est spécifique du genre *Neisseria* et son extrémité N-terminale (NterPilB) recycle les formes oxydées de certains domaines protéiques impliqués dans le système de défense de la bactérie (Wu *et al.*, 2005). Le domaine N-terminal de la protéine DsbD (N-DsbD) a été récemment identifié comme le partenaire réducteur de NterPilB (Brot *et al.*, 2006). Nous avons déterminé par RMN la structure en solution et la dynamique interne des formes réduite et oxydée de NterPilB et du mutant C103S de N-DsbD de *Neisseria meningitidis*.

Le domaine NterPilB appartient à la famille structurale des Trx. Les structures RX et RMN de NterPilB sont assez similaires mais présentent cependant des différences structurales subtiles. Nous avons démontré une rigidité importante du domaine NterPilB en solution. Le domaine N-DsbD présente un repliement de type immunoglobuline original pour une disulfide réductase. Des changements structuraux, globaux et localisés dans le site actif, ont été mis en lumière entre les genres bactériens *Neisseria* et *Escherichia*. L'étude dynamique montre la flexibilité significative de N-DsbD avec un site actif potentiellement capable d'adapter sa conformation à son substrat. Des structures RX de complexes impliquant N-DsbD ont montré les changements structuraux intervenant sur N-DsbD. Notre étude dynamique apporte la preuve quant à la spécificité large de N-DsbD et permet de dégager de potentielles zones d'interaction avec différents partenaires protéiques.

Parallèlement, nous avons attribué et modélisé, sur la base des variations de déplacements chimiques et des expériences de NOESY filtrées, le complexe covalent de 272 résidus entre NterPilB et N-DsbD.

Affiche 36**Le mode d'interaction de la Centrine de *Scherffelia dubia* dépend du Ca^{2+} et de la nature de la cible**L. Radu¹, L. Assairi¹, Y. Blouquit¹, I. Durussel², J. A. Cox², J.-B. Charbonnier³ et C. T. Craescu¹¹Laboratoire d'Imagerie Intégrative, INSERM U759/Institut Curie Centre de Recherche, Centre Universitaire Paris XI, Bât. 112, 91405 Orsay, ²Département de Biochimie, Université de Genève, Geneva 4, Suisse, ³Laboratoire de Biologie Structurale et Radiobiologie, iBiTec-S, CEA, CE-Saclay, 91191 Gif-s-Yvette Cedex

Les centrines sont des protéines bien conservées chez les eucaryotes. Ces protéines sont des senseurs du calcium de la superfamille EF-hand. Ces protéines sont constituées des deux domaines structurellement indépendants, constitués chacun de deux motifs EF-hand et donc de deux sites Ca^{2+} potentiels. Elles sont impliquées dans diverses fonctions cellulaires, comme la duplication du centrosome et la réparation de l'ADN.

Les centrines ont été décrites pour la première fois dans les algues vertes où elles participent à des structures filamenteuses qui se contractent en réponse à une augmentation de la concentration en Ca^{2+} . Alors que l'homme possède 3 isoformes de centrine (HsCen1 à HsCen3), les algues vertes comme *Scherffelia dubia* (SdCen), contiennent un seul gène codant la centrine. En dépit de leur similarité structurale, les centrines ont des propriétés fonctionnelles diverses qui n'ont pas encore une base moléculaire établie.

Dans cette communication nous présentons une caractérisation moléculaire et structurale détaillée de la SdCen intégrale et du domaine N-terminal, basée sur des méthodes biophysiques (CD, fluorescence, microcalorimétrie ITC, dialyse en flux, RMN et cristallographie). Le titrage par dialyse montre que SdCen possède trois sites de liaison du Ca^{2+} (deux avec une affinité forte et le troisième avec une affinité plus faible). Contrairement aux centrines d'eucaryotes supérieurs, SdCen est capable de lier simultanément, mais avec des affinités différentes, deux peptides cibles: un par le domaine C-terminal (faible dépendance en Ca^{2+}) et l'autre par le domaine N-terminal (forte dépendance en Ca^{2+}). Les caractéristiques structurales du domaine N-terminal ont été étudiées par RMN. En utilisant la cristallographie, nous étudions la structure de la protéine totale en complexe avec différents peptides cible. C'est la première fois qu'est mis en évidence des propriétés fonctionnelles de centrines qui dépendent d'une manière critique du Ca^{2+} .

Affiche 37**Analyse structurale en solution d'HBHA : une protéine intrinsèquement désordonnée impliquée dans la dissémination extra-pulmonaire des bacilles de la tuberculose**V. Receveur-Brechot¹, P. Lebrun², F. Dewitte², P. Rucktooa², F. Menozzi², D. Raze³, C. Locht³, V. Villeret³ et C. Bompard³¹AFMB - CNRS UMR 6098, Université Aix-Marseille I&II, 163 avenue de Luminy, case 932, 13288 Marseille cedex 9, France, ²CNRS UMR8161, Approches Structurales de la Pathogénèse, Institut de Biologie de Lille, 1 rue du Prof. Calmette, 59021 Lille cedex, France, ³INSERM-U629, Institut de Biologie de Lille, Institut Pasteur de Lille, 1 rue du Prof. Calmette, BP245 59019 Lille cedex, France

Mycobacterium tuberculosis est l'agent de la tuberculose chez l'homme. Cette maladie débute par l'inhalation de quelques bacilles qui dans 10% des cas vont se multiplier activement puis gagner la circulation sanguine. Ils vont ainsi pouvoir coloniser les régions extra-pulmonaires vulnérables et y provoquer des pathologies graves.

Une adhésine, a été identifiée à la surface de la bactérie. Cette protéine appelée HBHA pour «Heparin-Binding hæmagglutinin adhesin» se lie de façon spécifique aux cellules non macrophagiques humaines.

La séquence de la HBHA a montré un domaine C-terminal riche en lysines présentes sous forme de motifs répétés qui sont responsables des propriétés d'adhérence de la molécule d'HBHA aux chaînes d'héparane sulfate situées à la surface des cellules épithéliales. HBHA subit une maturation post traductionnelle qui consiste à la simple ou double méthylation de la plupart des lysines de ces motifs répétés. A l'aide de la construction de mutants isogéniques de *M. tuberculosis* HBHA, il a été montré que (i) la HBHA et son interaction avec les cellules épithéliales joue un rôle clé dans la dissémination extra-pulmonaire et que (ii) cette étape peut survenir très tôt lors de l'infection et ne nécessite pas de passage par les macrophages.

Nous avons réalisé l'étude structurale d'HBHA en combinant une analyse bioinformatique et différentes techniques en solution (SAXS, dichroïsme circulaire, DLS, etc.), HBHA possédant une région intrinsèquement désordonnée impliquée dans l'interaction avec les chaînes d'héparane sulfate. Nous avons ainsi pu décrire l'organisation moléculaire de cette adhésine, son interaction avec les cellules épithéliales et préciser le rôle des méthylation qu'elle subit.

Affiche 38**Couplage thermodynamique entre la liaison du Ca^{2+} et des cibles par la centrine humaine 2**

L. Unipan, Y. Blouquit et C. T. Craescu

INSERM U759/ Institut Curie Section de Recherche, Centre Universitaire Paris-Sud, 91405 Orsay cedex

Les protéines de la super-famille de la calmoduline sont constituées d'un ou plusieurs domaines EF, regroupant deux motifs EF-hand de liaison du calcium. L'activité régulatrice de ces protéines s'exerce par l'interaction avec des protéines cible lors de l'augmentation de la concentration du calcium dans certains compartiments cellulaires. Ce mécanisme est basé sur l'augmentation de l'affinité pour la cible après la liaison du calcium. Nous explorons les bases thermodynamiques de ce couplage énergétique dans une nouvelle famille de protéines EF-hand, les centrines.

Le modèle utilisé est la centrine humaine 2 (HsCen2) et son peptide cible (P17-XPC), un peptide de 17 acides aminés dérivé de la protéine XPC impliquée dans la réparation de l'ADN. L'utilisation de la calorimétrie de titrage isotherme (ITC) permet d'obtenir les paramètres standards de l'interaction intermoléculaire.

L'étude de l'interaction HsCen2/P17-XPC en fonction de température permet de mesurer la variation de la capacité calorifique du processus ΔC_p , qui exprime la dépendance de l'enthalpie d'interaction de la température. En présence et en absence du calcium la capacité calorifique de l'interaction avec la cible est fortement négative, indiquant une interface largement hydrophobe. Cependant, en absence du calcium ΔC_p est environ 40% plus grande qu'en présence du calcium. Le couplage énergétique Ca^{2+} /peptide cible a été également étudié, en titrant la le domaine C-terminal de la centrine par le calcium en absence et en présence du peptide P17-XPC. Dans les deux cas on observe un seul site de liaison du métal (le site IV). Le titrage du complexe centrine/peptide par le calcium reflète seulement les interactions métal/ligands et la neutralisation des protons dissociés par le tampon.

Affiche 39**Effets d'une mutation responsable du cancer de la prostate sur le domaine DBD du récepteur nucléaire des hormones androgènes**Y.-H. Wang¹, A. Monge², J. Céraline², R. A. Atkinson¹ et B. Kieffer¹

¹Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, UMR 7104, 1 rue Laurent Fries, BP 10142, 67404 Illkirch cedex, ²Laboratoire de Cancérologie Expérimentale et de Radiobiologie, EA 3430, Université Louis Pasteur de Strasbourg, IRCAD, BP426, 67091 Strasbourg cedex

Le cancer de la prostate est le deuxième cancer le plus fréquent chez l'homme. La voie de signalisation du récepteur des androgènes (AR) est impliquée dans la progression de ce cancer car les cellules cancéreuses restent dépendantes des androgènes pour leur prolifération et leur survie. Cette dépendance des cellules cancéreuses prostatiques est mise à profit dans le traitement des formes métastatiques de ce cancer qui consiste en une privation androgénique (castration médicale). Cependant, l'expérience montre une perte d'efficacité systématique au cours du traitement. Les mécanismes moléculaires à la base de cet échappement hormonal restent encore mal connus. Ils viseraient pour la plupart à rétablir la voie de signalisation du récepteur des androgènes, en dépit de la privation en androgène. L'apparition de mutations du récepteur des androgènes consitue l'un de ces mécanismes. Une de ces mutations, identifiée par le groupe du Dr. Ceraline à l'IRCAD [1], altère les propriétés de reconnaissance du récepteur aux androgènes pour les séquences ADN cibles (éléments de réponse). Ce changement de spécificité est corrélé à une modification de l'affinité du domaine DBD pour les éléments de réponse spécifiques et non spécifiques. Nous avons résolu la structure tridimensionnelle des domaines DBD sauvage et mutant par RMN et étudié leur dynamique. Nous avons démontré que la mutation n'a aucune influence sur la structure des domaines. En revanche, la dynamique de la boucle peptidique située entre les ligands du zinc est différente entre les deux domaines. Cette différence provient d'un changement du pKa de l'histidine apicale qui augmente d'une demi-unité de pH à la suite de la mutation.

Référence :

[1] Monge A., et al. (2006) Cell Mol Life Sci. 63 p487

– Biophysique cellulaire –

Affiche 40**FCS diffusion laws in two-phase, two-component lipid bilayers**

C. Favard, J. Ehrig, J. Wenger, P. F. Lenne et H. Rigneault

Projet Mosaic - Institut Fresnel, CNRS UMR 6133, D.U. Saint Jérôme, 13397 Marseille cedex 20

Lateral segregation in model lipid and cell membranes has been widely documented during these last decades. It is commonly admitted that segregation occurs at various spatio-temporal scales and therefore is very difficult to characterize. Our group has been pioneered Fluorescence Correlation Spectroscopy (FCS) at various spatial scale¹ to discriminate between variously organized microdomains that prevent the free lateral diffusion of membrane components. Based on extensive confined diffusion modelling studies, it was established that the y-intercept t_0 in the FCS diffusion laws (plot of the diffusion time versus the observation area) is positive in the case of microdomains confinement (dynamic partitioning) but negative in that of trapping in a meshwork (actin-based cytoskeleton corrals)².

In the present work, we have used FCS diffusion laws combined with a complete thermodynamic modelling³ to analyze the behaviour of a two-phase, two-component lipid bilayers (DMPC:DSPC) at different temperatures. The main result obtained using numerical simulations shows a negative t_0 intercept with an absolute value increasing with decreasing temperature. This has been confirmed experimentally on DMPC:DSPC (80:20 mol:mol) mixtures. We will discuss this result in term of phase fluctuation and domain size.

Références :

- 1) L. Wawrezinieck, H. Rigneault, D. Marguet, P-F. Lenne, (2005) Fluorescence Correlation Spectroscopy Diffusion Laws to Probe the Submicron Cell Membrane Organization, *Biophys. J.*; **89**:4029-4042
- 2) Lenne PF, Wawrezinieck L, Conchonaud F, Wurtz O, Boned A, Guo XJ, Rigneault H, He HT, Marguet D. (2006) Dynamic molecular confinement in the plasma membrane by microdomains and the cytoskeleton meshwork. *EMBO J.*; **25**:3245-56.
- 3) Sugar IP, Biltonen RL. (2005) Lateral diffusion of molecules in two-component lipid bilayer: a Monte Carlo simulation study. *J Phys Chem B*; **109**:7373-86.

Affiche 41**Fluorescence correlation spectroscopy in live *Bacillus subtilis* cells**

M. Ferguson, N. Declerck et C. Royer

Centre de Biochimie Structurale, CNRS UMR 5048/Université de Montpellier 1/INSERM UMR 554, 29 rue de Navacelles, 34090 Montpellier

Fluorescence correlation spectroscopy (FCS) is a useful technique for characterizing the mobility and concentration of fluorescent molecules both in vitro and in vivo. We utilize two photon FCS to study the concentration and mobility of fluorescent molecules within cells of *Bacillus subtilis*. Autocorrelation functions were measured in bacteria expressing IPTG inducible green fluorescent protein in nutrient rich culture medium and nutrient poor medium. Although there is considerable heterogeneity from cell to cell, both intracellular concentration and mobility were found to be dependent upon culture medium and IPTG concentration. Results indicate that GFP diffuses slower in cells grown in nutrient poor medium and has a higher average concentration with a more heterogeneous distribution. Photobleaching was observed during the course of the measurements as a depletion in fluorescence intensity. This was due to the small size of the bacteria (~10 fL) and low basal expression levels of GFP in the absence of IPTG (~100 nM). Methods to take this into account during data analysis will be discussed.

Affiche 42**Étude des interactions entre récepteurs nucléaires et corégulateurs dans les cellules vivantes par spectroscopie bi-photonique de corrélation croisée de fluorescence**J. Savatier^{1,2}, S. Jalaguier², E. Margeat¹, V. Cavailès² et C. Royer¹¹Centre de Biochimie Structurale. INSERM U554 - CNRS UMR 5048 - Université Montpellier I et II, Montpellier, ²CRCM, INSERM U824, Montpellier

Les récepteurs nucléaires sont des facteurs de transcription qui jouent un grand rôle dans plusieurs fonctions cellulaires et sont impliqués dans un grand nombre de maladies humaines. Ils représentent donc d'importantes cibles pour le développement de médicaments and beaucoup de leurs ligands sont d'ores et déjà utilisés de façon thérapeutique. Le but de cette étude est de caractériser quantitativement en cellule vivantes les interactions entre récepteurs nucléaires et leurs corégulateurs afin de mieux déterminer leurs mécanismes fonctionnels et pouvoir moduler leur activité.

Nous utilisons pour cela la spectroscopie bi-photonique de corrélation croisée de fluorescence. Elle permet de suivre le degré d'interaction entre deux protéines couplées à des protéines fluorescentes de couleurs différentes. Notre étude se concentre sur le récepteur homodimérique aux œstrogènes (ER) avec ses sous-types α et β , et deux corégulateurs, TIF2 et RIP140, dans les cellules COS-7. Nous avons construit les protéines de fusion suivantes : cerulean-ER α , cerulean-ER β , cherry-TIF2 et cherry-RIP140. Leurs activités ont été testées dans les cellules après transfection transitoire, en présence d'agoniste (estradiol, E2) ou d'antagoniste (ICI). Nous avons ensuite analysé quantitativement leurs interactions dans ces mêmes conditions.

Malgré une très forte variabilité intercellulaire au niveau des temps de diffusion des différents acteurs, l'ajout de l'agoniste conduit à la formation de complexe à 90% entre TIF2 et les deux sous-types d'ER. L'ajout de l'antagoniste inhibe complètement cette formation. Les résultats sont similaires pour RIP140. Dans des conditions contrôle, la variabilité intercellulaire des interactions ER-corégulateurs est très grande.

Affiche 43**Comparaison entre le Modèle de Potts Cellulaire et la morphologie de cellules adhérentes sur supports microstructurés**B. Vianay¹, J. Käfer², E. Planus³, M. Block³, F. Graner² et H. Guillou¹¹Institut Néel, CNRS & Université Joseph Fourier, BP 166, 38042 Grenoble Cedex 9, ²Laboratoire de spectrométrie Physique, UMR 5588, Université Joseph Fourier Grenoble I & CNRS, 140 Avenue de la Physique, 38402 Saint Martin d'Hères, ³INSERM U823, Equipe DySAD, Institut Albert Bonniot, Site Santé, BP170, 38042 Grenoble

La cellule est considérée comme un système vivant hors équilibre, son adhésion et sa motilité sont des processus issus de phénomènes biologiques fondamentaux. Le processus d'adhésion est caractérisé d'une part par l'établissement d'interactions spécifiques entre des protéines transmembranaires (intégrines) et la fibronectine, une des protéines de la matrice extracellulaire (MEC), et d'autre part par la réorganisation du cytosquelette. Les points d'ancrage et les filaments d'actine du cytosquelette sont des structures extrêmement dynamiques et hors équilibres. Nous avons étudié la morphologie de cellules en adhérence sur un substrat microstructuré. L'introduction d'une distance finie entre les points d'ancrage de la cellule modifie leur distribution ainsi que l'organisation du cytosquelette d'actine, les cellules s'organisent en formes géométriques simples dans lesquelles l'organisation des filaments d'actine et des points d'ancrage est très reproductible. La dynamique de la réorganisation de ces structures est également très ralentie sans que celle des protrusions membranaires soit affectée.

Ces observations nous ont conduit à supposer que les formes auto-organisées des cellules sur support microstructuré peuvent être considérés comme des états métastables. Nous avons testé cette hypothèse en modélisant les cellules à l'aide du modèle de Potts Cellulaire introduit par Glazier et Graner (PRL69 p2013 (1992)). Nous montrons à l'aide de ce modèle thermodynamique qu'il est possible de décrire les formes prises par les cellules comme des minimums d'énergie. Nous discutons des implications biologiques et physiques de ces résultats en terme de protrusions membranaires et fluctuations thermiques et de phénomènes de relaxation dans les cellules.

– **Bioénergétique** –

Affiche 44

Imagerie de fluorescence appliquée à l'étude *in vivo* de l'activité photosynthétique

J. Alric¹, X. Johnson¹, G. Vandystadt¹, D. Beal¹, R. Dubois² et P. Roussel²

¹Laboratoire de Physiologie Membranaire et Moléculaire du Chloroplaste UMR 7141, CNRS-Paris VI, Institut de Biologie Physico-Chimique, 13, rue Pierre et Marie Curie, 75005 Paris, France, ²Ecole Supérieure de Physique et de Chimie Industrielles de la ville de Paris (ESPCI-Paristech), Laboratoire d'Electronique (UMR CNRS 7084), 75231 Paris Cedex 05, France

Nous venons de réaliser un système d'imagerie numérique adapté aux mesures de fluorescence de chlorophylle *in vivo*. Muni d'une caméra CCD de 12 bits de dynamique et d'une résolution spatiale de 640x480 pixels, ce système atteint une cadence de 1000 images par seconde. Des outils algorithmiques ont été développés pour l'analyse temporelle des données vidéo. Ces instruments et méthodes permettent d'utiliser l'activité photosynthétique des plantes ou des algues unicellulaires comme un outil pour l'étude *in situ* des flux métaboliques impliquant le pouvoir réducteur et le potentiel phosphate (ATP), en relation avec la fixation de carbone atmosphérique (CO₂) ou la consommation de sucres dans la glycolyse. Nous montrons ici quelques études préliminaires de physiologie cellulaire, de métabolisme et de bioénergétique *in vivo* chez la plante *Arabidopsis thaliana*, et nous exposons les perspectives de criblage de mutants d'insertion chez l'algue unicellulaire *Chlamydomonas reinhardtii*.

Affiche 45

Métabolisme énergétique d'une bactérie hyperthermophile : Organisation en supercomplexes des voies respiratoires

M. Guiral, P. Infossi, L. Prunetti, M.-C. Giuliani et M.-T. Giudici-Ortoni

Laboratoire de Bioénergétique et Ingénierie des Protéines, IBSM-CNRS, 31 chemin Joseph Aiguier, 13402 Marseille cedex 20

Aquifex aeolicus est une bactérie hyperthermophile (85°C), microaérophile et chimiolithoautotrophe qui nécessite pour sa croissance la présence d'un mélange H₂ / CO₂ / O₂ et d'un composé soufré. Elle utilise l'hydrogène moléculaire comme source d'énergie et l'oxygène moléculaire comme accepteur terminal d'électrons.

Dans un but de mieux comprendre le métabolisme énergétique et de mieux connaître les protéines impliquées dans les différentes voies bioénergétiques de cette bactérie, nous avons mis en place une approche protéomique faisant intervenir la séparation de protéines membranaires par gels bleus natifs, la détection d'activités enzymatiques sur gels et l'identification de protéines par chromatographies multidimensionnelles couplées à la spectrométrie de masse en tandem (2D nanoLC-MS/MS). Cette stratégie nous a permis de mettre en évidence et de caractériser en détail certains complexes respiratoires membranaires mais également des supercomplexes, résultant de l'association de différents complexes.

Par la suite, nous avons purifié deux édifices membranaires d'oxydo-réduction de haut poids moléculaires. Leur caractérisation biochimique et enzymatique a montré qu'ils sont impliqués dans deux voies respiratoires différentes et a permis de proposer un modèle du métabolisme énergétique chez *Aquifex*. Ces travaux ont montré que la voie de réduction de l'oxygène ainsi que celle du soufre présentent une organisation supramoléculaire chez cette bactérie.

Affiche 46

Un édifice supramoléculaire membranaire impliqué dans la respiration H₂/S chez *Aquifex aeolicus* : mise en évidence, caractérisation et rôle fonctionnel

P. Infossi, M. Guiral, M.-C. Giuliani et M.-T. Giudici-Orticoni

Laboratoire de Bioénergétique et Ingénierie des Protéines, IBSM CNRS 31 chemin J. Aiguier, 13402 Marseille Cedex 20

Aquifex aeolicus est une bactérie hyperthermophile qui nécessite pour sa croissance la présence d'un mélange H₂ / CO₂ / O₂ et d'un composé soufré. Elle utilise l'hydrogène moléculaire comme source d'énergie et l'oxygène moléculaire comme accepteur terminal d'électrons. Elle possède trois hydrogénases à [NiFe], deux sont membranaires périplasmiques, la troisième étant soluble dans le cytoplasme.

Après avoir mis en évidence une croissance sur Soufre, nous avons purifié et caractérisé un supercomplexe soufre réductase-hydrogénase membranaire, couplant l'oxydation périplasmique de l'hydrogène à la réduction cytoplasmique du soufre élémentaire. Cette superstructure contient l'hydrogénase II membranaire et une soufre réductase composée de 3 sous unités et présentant différents clusters Fe-S et un cofacteur à molybdène. L'implication d'une quinone dans le transfert électronique au sein du complexe a également été démontrée. Cette nouvelle quinone a été purifiée et sa structure 3D résolue. C'est la première quinone d'hyperthermophiles à avoir été ainsi caractérisée. Nous avons recherché le rôle que ce complexe pourrait jouer dans la cellule et quels sont ses partenaires physiologiques. Le rôle des lipides dans la stabilisation et la fonctionnalité des protéines membranaires d'*Aquifex aeolicus* a été abordé par des expériences de reconstitution dans les liposomes.

– Assemblages biomoléculaires –

Affiche 47**Influence de la longueur des chaînes acyles des phospholipides et des taux de stérols sur les propriétés pharmacologiques des récepteurs mu et delta aux opioïdes**

A. Andre, C. Millot, A. Sauliere, C. Lebrun, G. Gaibelet et A. Lopez
IPBS UMR 5089, 205 route de Narbonne, 31077-Toulouse cedex 4

Des membranes plasmiques de CHO ou de HEK surexprimant le récepteur μ (MOR) ou le récepteur δ (DOR) ont été étudiées.

Par extraction au TX100 à 4° des membranes plasmiques des cellules, nous avons quantifié la distribution DRM / Non-DRM de ces deux récepteurs et étudié l'influence de la liaison à des agonistes, des antagonistes et à des protéines G.

Nous trouvons très peu de récepteurs MOR ou DOR dans les DRM à l'état basal. Après activation des récepteurs par un agoniste ~13 % de MOR et de DOR sont délocalisés dans les DRM et ont besoin des protéines G pour cette relocalisation. Tous les autres récepteurs dont la conformation implique une basse affinité pour les agonistes mais en haute affinité pour les antagonistes, restent localisés dans les N-DRM [1,2].

Pour comprendre cette localisation membranaire des récepteurs, nous avons étudié l'influence des longueurs de chaînes acyles des phospholipides et des stérols (cholestérol et ergostérol) sur la pharmacologie des récepteurs. Des fusions de liposomes constitués de phospholipides de longueur de chaînes connues, avec des membranes plasmiques contenant DOR ont été réalisées. Au niveau basal, on trouve un optimum d'affinité avec les longueurs de chaînes C18:1, C20:1, C22:1. Après addition du cholestérol, cet optimum est retrouvé pour C12:0, C14:1.

Sur des membranes de *S. cerevisiae* qui surexprimaient MOR, nous avons précédemment montré que l'ergostérol contraint MOR dans un état de basse affinité. Inversement après complémentation en Chol sur des membranes préalablement déplétées en Erg, la haute affinité pour les agonistes était retrouvée. Sur membrane plasmique de cellules de mammifères, seul le cholestérol régule l'état d'activation de MOR et DOR [2]. A l'état basal il maintient respectivement ~50% et ~32% des récepteurs dans un état de haute affinité pour les agonistes si les protéines G sont présentes. Ce pourcentage est réduit à ~45% et ~25% après découplage des protéines G par le GppNHp.

Références:

[1] G. Gaibelet et al. (2008) MMB. TMBC-2008-0011.R1.

[2] André A et al. (2008) BBA 1778:1483-1492.

Affiche 48**Nanomanipulation de fibres individuelles de chromatine par pinces magnétiques**

A. Bancaud¹, G. Wagner¹, N. Conde e Silva², P. Recouvreur¹, C. Lavelle^{1,4}, J. Mozziconacci³, H. Wong³, M. Barbi³, E. Le Cam⁴, J.-M. Victor³ et J.-L. Viovy¹

¹Insitut Curie CNRS-UMR 168, Paris, France, ²Institut Jacques Monod CNRS-UMR 7592, Paris, France, ³LPTMC CNRS-UMR 7600, Paris, France, ⁴Institut Gustave Roussy CNRS-UMR 8126, Paris, France

Le nucléosome est l'unité de base de la chromatine, il consiste en une superhélice gauche de 146 paires de bases d'ADN autour d'un octamère d'histones. Cet octamère contient deux copies de chacune des histones H2A, H2B, H3 et H4. Nous utilisons des pinces magnétiques pour sonder la réponse mécanique sous tension et torsion d'une fibre individuelle de chromatine, cette fibre contient 38 nucléosomes placés sur les répétitions de la séquence positionnante 601. De telles fibres peuvent supporter un plus fort surenroulement que l'ADN nu correspondant. Ce comportement est expliqué par le passage entre différentes conformations topologiques du nucléosome, correspondant aux trois états distincts de croisement des ADN entrants et sortants : négatif, nul ou positif. De plus ces fibres présentent un comportement hystérétique lorsqu'elles sont soumises à un fort surenroulement positif, leur longueur est plus grande lorsque la torsion est peu à peu diminuée. Cet hystérésis est la conséquence du piégeage par le nucléosome d'un tour positif. Ces résultats suggèrent un réarrangement structural du nucléosome qui peut être relié à la transition chirale du tétrasome (le tétramère H3-H4 et l'ADN qui lui est attaché). Comme l'énergie de cet état altéré est basse (~6kT) ce comportement peut être impliqué dans les processus physiologiques tels que la transcription ou la réplication pour supporter les contraintes de surenroulement générées par les polymérases.

Affiche 49**HIV-1 Vif regulates the translation of the antiviral factor APOBEC3G by binding to its messenger RNA**

S. Bernacchi, G. Mercenne, M. Staedelin, D. Richer, R. Marquet et J.-C. Paillart

Architecture et Réactivité de l'ARN, UPR 9002 CNRS, Université Louis Pasteur de Strasbourg, IBMC, 15 Rue René Descartes, 67084 Strasbourg, France.

HIV-1 Vif (Viral Infectivity Factor) is a 23KDa basic protein that is essential to viral fitness and pathogenicity. Vif binds specifically HIV-1 genomic RNA and may contribute to efficient particle assembly. Moreover, Vif is an RNA chaperone that could temporally regulate genomic RNA dimerization and HIV-1 reverse transcription early steps. Particular cell lines (CD4+ T lymphocytes, monocytes, macrophages), named non-permissive, cannot sustain viral replication of HIV-1 Δ Vif virions. In these cells, Vif counteracts efficiently the antiviral activity of two host cell cytidine deaminases, APOBEC3G (APO3G) and APO3F by preventing their packaging into viral particles. To this aim, Vif induces their degradation through the proteasomal pathway, or alternatively inhibits their translation by an unknown mechanism. In addition, *in vitro* experiments showed that Vif forms multimers and that the inactivation of the multimerization domain considerably reduces viral infectivity by increasing APO3G proteins encapsidation.

To gain further insights into determinants of APO3G translational regulation, we characterized Vif binding to full length mRNA or RNA fragments corresponding to coding or untranslated (UTR) regions of APO3G mRNA by fluorescence spectroscopy and filter binding assays. Our results revealed preferential and cooperative binding for RNAs corresponding to 3' UTR. Vif multimerization was found to be important towards APO3G mRNA binding, since similar analysis on mutated Vif proteins (unable to form multimers), showed reduced affinity and cooperativity values for 3' and 5' UTR regions. In a further step, we analyzed the effect of Vif on the *in vitro* translation of APO3G in reticulocyte lysates and in cell cultures by co-transfection experiments. In good agreement with our previous data, these analyses revealed that inhibition of APO3G translation by Vif is dependent on the UTRs of APO3G mRNA. Taken together, these results suggest that Vif may inhibit APO3G translation by specifically binding to the 3' and/or 5' UTRs of APO3G mRNA.

Affiche 50**Régulation de l'éjection du génome du bactériophage T5**

P. Boulanger¹, L. Letellier¹, M. de Frutos², E. Raspaud², F. Confalonieri³ et Y. Zivanovic³

¹IBBMC- CNRS UMR8619 Bât 430 - Université Paris-Sud, 91405 Orsay Cedex, ²LPS-CNRS UMR8502 Bât 510 - Université Paris-Sud, 91405 Orsay Cedex, ³IGM-CNRS UMR8621 Bât 400 - Université Paris-Sud, 91405 Orsay Cedex

Le bactériophage T5 est un phage lytique à ADN double brin appartenant à la famille morphologique des siphoviridae, Il présente des caractéristiques structurales uniques et utilise une stratégie d'infection atypique. Son ADN (121750 pb) présente de longues répétitions terminales (10 kb) et des interruptions simple brin ou « nicks » à des positions génétiquement définies sur un seul brin. Le transfert de son génome dans la bactérie hôte suit un processus en deux étapes, contrôlé par la synthèse de protéines virales. T5 est un modèle de choix pour l'étude du transport de l'ADN *in vitro*. En effet, l'interaction entre le phage et son récepteur membranaire, la protéine FhuA, suffit à provoquer l'éjection de l'ADN dans le milieu extérieur. L'analyse de l'éjection du génome de T5, par des approches biochimiques et physiques (microscopie de fluorescence sur particule unique et diffusion de la lumière) a mis en évidence une cinétique d'éjection complexe, s'effectuant par étapes entrecoupées de pauses correspondant à des longueurs d'ADN déterminées. Nous cherchons à comprendre quelles sont les interactions entre les protéines structurales du phage et la molécule d'ADN qui régulent l'éjection du génome. Nous avons comparé les cinétiques d'éjection observées sur le phage sauvage et sur différents mutants de T5, partiellement ou entièrement dépourvus de nicks. Nos résultats suggèrent qu'il existe un système de reconnaissance de l'ADN au niveau de ces nicks, dépendant de la structure du phage. Les observations faites *in vitro* seront discutées en relation avec la dynamique de transfert de l'ADN *in vivo*, dans la bactérie.

Affiche 51**Études structurales par RMN du complexe formé par le domaine THAP de THAP1 et sa cible ADN THABS**

S. Campagne, V. Gervais et A. Milon

IPBS-CNRS, 205 route de Narbonne, 31400 Toulouse

Les protéines THAP humaines forment une famille de douze protéines nucléaires qui ont en commun dans leur partie N-terminale un domaine de 90 acides aminés que l'on appelle domaine THAP. Le domaine THAP de la protéine THAP1 a été caractérisé comme un domaine de liaison à l'ADN séquence spécifique dépendant du zinc (Clouaire et al. *PNAS* 2005). De plus, de récentes données fonctionnelles font de la protéine THAP1, un facteur de transcription impliqué dans la transition G1/S du cycle cellulaire des cellules HUVEC et, plus particulièrement, lié à la voie oncogénique pRb/E2F (Cayrol et al. *Blood* 2007). Dans ce contexte, la structure du domaine THAP de THAP1 a été résolue (Bessiere et al. *JBC* 2008) par RMN révélant une structure en doigt de zinc atypique caractérisée par un repliement de type $\beta\alpha\beta$. L'analyse des variations de déplacements chimiques ^{15}N et HN lors de la formation du complexe et des données de mutagenèse dirigée ont permis de proposer un modèle d'interaction (Bessiere et al. *JBC* 2008) qui suggère un mode de reconnaissance original. Cependant, ce modèle topologique reste incapable d'expliquer la spécificité de reconnaissance et la collecte de contraintes structurales supplémentaires (NOE intermoléculaires, RDC, ...) semble nécessaire afin d'orienter plus précisément la protéine sur sa cible ADN.

Après un travail d'optimisation (mutagenèse dirigée, optimisation des conditions physico-chimiques de l'interaction), les spectres RMN du complexe domaine THAP de THAP1/ THABS sont maintenant compatibles avec une étude structurale par RMN liquide haute résolution. La production d'un échantillon uniformément marqué $^{13}\text{C}^{15}\text{N}$ nous permettra d'enregistrer les expériences RMN pour réaliser l'attribution séquentielle de la protéine complexée ainsi que des expériences ^{13}C éditées/filtrées afin de mettre en évidence des NOE intermoléculaires et, ainsi, mieux comprendre les mécanismes moléculaires qui engendrent la reconnaissance spécifique.

Affiche 52**Cinétique et énergétique de l'éjection de l'ADN des bactériophages**M. de Frutos¹, E. Raspaud¹, P. Boulanger², L. Letellier², C. Sao-José³ et P. Tavares⁴

¹Laboratoire de Physique des Solides, Université Paris-Sud, CNRS, UMR 8502, F-91405, Orsay Cedex, France, ²Institut de Biochimie et Biophysique Moléculaire et Cellulaire, UMR CNRS 8619, Université Paris-Sud, 91405 Orsay Cedex, France, ³Instituto de Ciência Aplicada e Tecnologia e Departamento de Biologia Vegetal, Faculdade de Ciências de Lisboa, Ed. ICAT, 1749-016 Lisboa, Portugal, ⁴Unité de Virologie Moléculaire et Structurale, UMR CNRS 2472, UMR INRA 1157 and IFR 115, Bât 14B, Avenue de la Terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette, France

L'infection d'une bactérie par un phage s'effectue dans la majorité des cas suivant une même séquence d'évènements: après la fixation du phage sur son récepteur spécifique, le génome est injecté à travers la membrane dans le cytoplasme bactérien. *In vitro*, l'interaction du phage avec son récepteur induit la libération spontanée de l'ADN. L'étude effectuée sur les phages T5, SPP1 et Lambda (*Syphoviridae*) a permis de déterminer les mécanismes physiques responsables d'un tel transport. L'éjection apparaît essentiellement gouvernée par la forte pression due au confinement de l'ADN dans la capsid. Les aspects cinétique et énergétique de l'éjection *in vitro* ont été abordés par des mesures de diffusion de la lumière. La dépendance du taux de transfert en fonction de la température permet de calculer la barrière d'activation contrôlant le processus d'éjection. L'ensemble de nos résultats suggère que l'éjection de l'ADN est régulée *in vitro* par des changements conformationnels de la structure protéique du phage. Au-delà des similitudes observées pour les différents phages, une analyse détaillée des cinétiques d'éjection révèle également des spécificités propres à chaque phage: la sortie de l'ADN peut s'effectuer continûment ou bien être ponctuée par des arrêts. Ces spécificités observées *in vitro* sont-elles en relation avec la structure de chaque phage et les différentes stratégies d'injection du génome *in vivo*?

Affiche 53**Assemblage des capsides du bactériophage T5**

A. Huet¹, J. Conway², Z. Haj Slimane¹, P. Decottignies¹, L. Letellier¹ et P. Boulanger¹

¹CNRS UMR 8619 Institut de Biochimie et Biophysique Moléculaire et Cellulaire (IBBMC) Bat 430 - Université Paris Sud F-91405 Orsay cedex, ²Department of Structural Biology University of Pittsburgh School of Medicine Biomedical Science Tower 3, Room 2047 3501 5th Ave Pittsburgh, PA 15260 U.S.A.

Les bactériophages sont des modèles privilégiés pour étudier les mécanismes d'auto-assemblage des virus qui possèdent une capsidie à symétrie icosaédrique.

L'assemblage des capsides débute par la formation de procapsides vides d'ADN qui subissent différentes modifications structurales au cours de l'encapsidation de l'ADN. Dans le cas du phage T5, la capsidie icosaédrique résulte de l'association d'unités hexamériques (faces) et pentamériques (sommets) de la protéine majeure de tête (775 copies). Deux autres protéines sont nécessaires à la formation de la capsidie: la portale (12 copies) qui forme le pore d'entrée de l'ADN au niveau d'un sommet et une protéase de maturation (20 copies). Nous étudions les processus d'assemblage et d'expansion des procapsides.

A l'aide d'un mutant du phage T5 dont le moteur moléculaire d'encapsidation est inactif, nous avons isolé deux formes de la procapsidie vide, avant et après expansion. Leur structure, déterminée par cryomicroscopie électronique et reconstruction d'image révèle d'importants réarrangements structuraux.

Par ailleurs, l'auto-assemblage des capsides est étudié par la surexpression chez *E. coli* des gènes codant pour les protéines de capsides. Nous avons caractérisé les différentes structures obtenues, établi le rôle de la protéase de maturation dans la formation des pentamères et celui de la portale dans la régulation de l'auto-assemblage.

Ces résultats permettent également d'aborder l'étude plus large de l'encapsidation du génome du phage T5.

Affiche 54**Diffusion and fluctuations in asymmetric stacks of supported bilayers**

C. Mauroy¹, N. Destainville², C. Lebrun¹, M. Manghi², E. Haanappel¹, S. Mazeres¹ et L. Salomé¹

¹Institut de Pharmacologie et Biologie Structurale, UMR 5089 CNRS-Université de Toulouse, 205 route de Narbonne, 31077 Toulouse Cedex, ²Laboratoire de Physique Théorique - IRSAMC, UMR 5152 CNRS-Université de Toulouse, 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex

Proteins embedded in the cellular plasma membrane fulfill a large diversity of important functions for the life of the cell, such as the transport of molecules or signalization across the membrane. Many of these functions involve the encounter of several partners at the cell surface and are thus closely related to their diffusive properties. In order to unravel the complex dynamics and organization of membrane constituents, it is useful to investigate them in a well-characterized medium. We designed an original system of *double* supported bilayers to analyze protein diffusion. It avoids the interaction, present in single supported bilayers, of the extra-membranous parts of proteins with the underlying glass coverslip. Here, we focused on the characterization of this purely lipidic system.

We have finalized a protocol of successive formation of bilayers stacked on a glass coverslip by fusion of liposomes. With the method of Förster Resonance Energy Transfer (FRET), we can give evidence for the superposition of bilayers. We have performed fluorescence recovery after photo-bleaching (FRAP) experiments to measure the diffusion coefficient D of the upper bilayer. Up to four successive stacked bilayers can be formed, D is found to increase with the number of stacked membranes suggesting a decrease of the interactions between successive bilayers and the glass. We propose a theoretical model, taking into account the thermal fluctuations of the membranes, which accounts for the different experimental observations.

Contact: laurence.salome@ipbs.fr

Affiche 55**Purification and Characterization Of The Putative Yeast Complex R2TP**

S. Moréra¹, K. Eckert¹, C. Caillat¹, P. Meyer¹, C. Papin², M. Grigoriev², M. Nicaise³ et C. Sophie³

¹LEBS, UPR3082, CNRS, Gif-sur-Yvette, ²LBME, UMR 5099, CNRS, Université Paul Sabatier, Toulouse, ³IBBMC, Université Paris-XI, Orsay

The DNA helicases Rvb1 and Rvb2 are essential proteins in yeast, *Drosophila* and *Caenorhabditis elegans* as part of chromatin remodeling complexes. They have previously been shown to interact with the proteins Tah1 and Pih1, resulting in the formation of a complex termed R2TP (Rvb1, Rvb2, Tah1, Pih1). In turn, Tah1 and Pih1 were first identified by a two-hybrid screen with the molecular chaperone Hsp90 as bait. This suggests that Rvb1 and Rvb2 may be clients of Hsp90.

Genes encoding the R2TP proteins were expressed in pairs in *Escherichia coli*, whereby only one gene product carried a his-tag. In subsequent pull-down assays only Rvb1-Rvb2 and Tah1-Pih1 were found to co-elute. The same proteins co-eluted after gel filtration. We conclude that the helicases on the one hand and Pih1 and Tah1 on the other hand form stable complexes. In contrast, we did not detect any interactions between the helicases and Pih1 and or Tah1. ATPase and helicase activity was detected in Rvb2, but the Rvb1-Rvb2 complex showed neither activity. In isothermal titration calorimetry the Rvb1-Rvb2 complex did not show any interaction with Pih1-Tah1, Tah1 alone or Hsp90. In contrast, the Pih1-Tah1 complex and Tah1 displayed significant affinity towards Hsp90.

Our data confirms the complexes Rvb1-Rvb2 and Pih1-Tah1, but suggests that the interactions between the two complexes are weak. Strikingly, only Rvb2 alone displayed helicase and ATPase activity. It will be interesting to see if Hsp90 can modify this activity either directly or *via* Pih1-Tah1.

Affiche 56**The interaction of human papillomavirus oncoprotein E6 with cruciform DNA: a Biacore study**

Y. Nominé¹, L. Choulier², D. Altschuh² et G. Travé¹

¹Université Louis Pasteur, groupe Oncoprotéines, UMR 7175 - LC1, ESBS, Bvd Sébastien Brandt — BP 10413, F-67412 Illkirch, France, ²Université Louis Pasteur, groupe Biocapteurs, UMR 7175 - LC1 ESBS, Bvd Sébastien Brandt — BP 10413, F-67412 Illkirch, France

E6 is an oncoprotein implicated in cervical cancers, produced by high-risk human papillomaviruses. We found recently that E6 interacts with cruciform four-way DNA junctions. This was demonstrated by using gel-retardation electrophoretic methods; however, this technique left an uncertainty about the effect of magnesium ion on the interaction. This point is important since this ion is present *in vivo*. Here, we have studied the characteristics of the interaction by Biacore. We managed to demonstrate that the interaction happens in presence of magnesium, indeed with a better affinity than in the absence of this ion. Moreover, we developed a new model to analyze the Biacore data. This analysis reveals two distinct association rate constants for E6 binding to DNA junction. The highest rate constant probably corresponds to the interaction between E6 and its structure-dependant site on the DNA, whereas the lowest rate constant corresponds to low-specificity binding to regular double-stranded DNA. The analysis model that we have developed can be adapted for future Biacore studies of DNA-protein interactions.

Affiche 57**Physicochemical studies on Lanreotide self-association process in water**M. Paternostre¹, F. Artzner², N. Fay¹, S. Lecomte⁴, E. Pouget², C. Valérie³ et A. Pandit¹¹CEA, Gif-sur-Yvette, France, ²CNRS, GMCM, Université de Rennes, France, ³IPSEN, Barcelona, Espagne, ⁴CNRS, Bordeaux, France

Self-assembly of peptides is a recurring theme in research and one of the most important strategies used in wide range of applications in biotechnology and material sciences.

We are working on Lanreotide, a synthetic analogue of the natural Somatostatin. The lanreotide, an octapeptide, self-assembles into well defined hierarchical structures. Currently, Lanreotide acetate is used as a therapeutic peptide in the treatment of acromegaly in the form of a gel. The self-assembling into nano-tubes of Lanreotide acetate in water strongly suggests a correlation between Lanreotide nano-organization and the controlled release properties.

We chose a multidisciplinary approach to study lanreotide and its derivatives, by combining electron microscopy, vibrational spectroscopies, small and wide angle X-ray scattering, and analytical ultra centrifugation to elucidate: (i)-the hierarchical structures formed and (ii)-the molecular and supramolecular self-assembly mechanism. We have recently shown the self-assembly occurs through the association of β -sheets driven by amphiphilicity and a systematic aromatic/aliphatic side chain segregation. The assembly is the result of a fine equilibrium between: (i)-ionic strength, (ii)-hydrophobic effect and (iii)-H-bond network. As a result we are able to govern the morphology of the object formed: fibres, ribbons and nanotubes with specific diameter. This original and simple system is a unique example of molecules able to self-organize into a well-defined nanostructure. The supramolecular organization of Lanreotide and derivatives demonstrates that this system is able to investigate the minimal interactions required for generating large self-assembling nanoscale structures, including proteins and could find implications for β -amyloid fibers.

Affiche 58**Supported biomimetic membrane designed for the investigation of a bacterial toxin translocation**C. Rossi¹, C. Lazzarelli², D. Ladant³ et J. Chopineau²¹UMR 6022 CNRS, Université de Technologie de Compiègne, BP 20529, 60205 Compiègne cedex, ²Université de Nîmes, Rue Docteur Georges Salan, 30021 Nîmes, ³Unité de Biochimie des Interactions Macromoléculaires, Département de Biologie Structurale et Chimie - CNRS URA 2185, Institut Pasteur, 28 rue du Dr Roux, 75724 Paris cedex 15

We describe here the construction of supported, biomimetic membranes for protein-membrane interactions studies. The membrane was obtained from phospholipid vesicles through chemical coupling onto amine grafted gold or glass surfaces and subsequent fusion to form a continuous membrane bilayer. DSPE-PEG-NHS was incorporated into the vesicles to serve as the anchoring phospholipid molecule with the long PEG spacer creating a water-filled compartment between the surface and the bilayer. This supported bilayer model was previously used to monitor the membranes binding properties of the adenylate cyclase toxin (CyaA) from *Bordetella pertussis*. We further implemented this membrane model to study the **translocation** of the catalytic domain of CyaA across the bilayer. Naturally, the CyaA catalytic domain, when it reaches the target cell cytosol, associates with calmodulin (CaM) an activator of the adenylate cyclase activity of CyaA. To mimic this natural situation, CaM was first immobilized on the surface (gold or glass) and then the supported bilayer was assembled over the CaM layer. Supported biomimetic membrane formation onto the CaM layer was confirmed by surface plasmon spectroscopy while membrane fluidity and continuity were observed by fluorescence microscopy. Our results demonstrated the potentialities of such polymer-tethered artificial membranes for the study of protein insertion into and translocation across biological membranes.

Affiche 59**Étude structurale de peptides à visée thérapeutique en oncologie**A. Tagounits¹, B. Hernandez¹, Y.-M. Coïc², C. Carelli¹, A. Cao¹, D. Briane¹ et M. Ghomi¹¹BioMoCeTi UMR CNRS 7033, Université Paris 13, UFR SMBH, 74 rue Marcel Cachin, 93017 Bobigny, ²Institut Pasteur, Unité de Chimie Organique, 28 rue du docteur Roux, 75724 Paris cedex 15

Nous présentons une étude structurale (réalisée par spectroscopie optique) sur différents peptides potentiellement utilisables dans le domaine de la cancérologie : i) en tant que vecteurs d'acides nucléiques, ii) comme des agents lytiques sélectifs vis-à-vis les membranes tumorales et iii) en tant que ligands des cibles membranaires.

i) *Peptides vecteurs*

Des peptides cationiques de type minimaliste (LK et LR) ont été utilisés pour transporter des acides nucléiques de différente taille (plasmides, ODN antisens, si-RNA) dans les cellules humaines. Les meilleurs taux de transfection sont obtenus avec des peptides montrant des populations homogènes en hélice α amphipathique (séquence générique $XLL(XLLL)_nXLLX$, X=K ou R, $n>2$).

ii) *Agents lytiques sélectifs*

Les peptides LK et LR (décrits précédemment) possèdent une activité lytique non spécifique envers les membranes cellulaires. Le remplacement d'acides aminés «L» par leurs isomères «D» (~30%) sur des positions adéquates de la séquence, pourrait rendre ces peptides sélectifs envers les membranes tumorales et bactériennes. L'impact des substitutions L→D sur la structure secondaire et l'agrégation est illustré en comparant les propriétés structurales du peptide LR₁₉ (RLLRLLLRLRLRLRLRL) et de son diastéréomère DL-LR₁₉ (RLLRLLLRLRLRLRLRL, résidus D soulignés)

iii) *Ligands des cibles membranaires*

Il s'agit d'une étude structurale comparative de deux peptides GH-mimétiques montrant des effets *in vitro* (croissance cellulaire) que *in vivo* (poids, taille):

- P7 (10 aa. de la séquence linéaire de la somatostatine + 14 de la hormone de croissance)
- P70 (obtenu par réarrangement des acides aminés lipo- et hydrophiles du P7)

Ces deux peptides montrent des différences au niveau structural et du comportement en fonction de l'environnement.

Affiche 60**Interaction et orientation de domaines répétés de la dystrophine en système membranaire modèle**V. Vié¹, S. Legardinier², B. Desbat³, A. Renault¹, J.-F. Hubert² et E. Le Rumeur²¹Groupe Matière condensée et matériaux, UMR CNRS 6626, Université de Rennes 1, ²UMR CNRS 6026, Equipe RMN et Interactions lipides protéines, Université de Rennes 1, ³CBMN UMR CNRS 5248, Pessac

La dystrophine est une protéine de 427 kDa localisée dans les cellules musculaires qui lie la membrane aux fibres d'actine du cytosquelette. Son domaine central est constitué de 24 motifs « spectrin-like » répétés de 110 résidus. Les données de la littérature montrent que ces motifs répétés ont une affinité variable avec les phospholipides^{1,2}. Dans notre étude, nous avons sélectionné et purifié deux domaines comprenant les répétitions 1 à 3 (ROD1) et les répétitions 20 à 24 (ROD5) ainsi que le deuxième motif répété, R2. La liaison de ces fragments avec les phospholipides a été analysée par fluorescence du tryptophane et chromatographie d'exclusion. Ces mesures révèlent un comportement similaire entre R2 et ROD1 avec une forte interaction avec les membranes, tandis que ROD5 ne semble pas s'associer avec ces dernières³. Les expériences menées en parallèle sur les cuves de Langmuir et en microscopie à force atomique permettent de discriminer le type d'interactions. Ainsi R2 et ROD1 se lient à la membrane lipidique à la fois par des forces électrostatiques mais aussi par des interactions hydrophobes. La présence de ROD5 à la surface des membranes est la conséquence de seuls effets électrostatiques. Des mesures de spectroscopie infra-rouge de surface montrent que, outre la détermination des structures secondaires des protéines aux interfaces, l'orientation des hélices α de R2, ROD1 et ROD5 est accessible. A l'interface lipidique, les hélices sont parallèles au plan de la membrane avec quelques différences qui seront discutées par rapport à la structure et les séquences des fragments.

Références :

- ^{1/} DeWolf et al, *Biophys J*, 72, 2599, 1997.
- ^{2/} Le Rumeur et al, *J Biol Chem*, 278, 5993, 2003.
- ^{3/} Legardinier et al, *Biochim Biophys Acta*, 1784, 672, 2008.

Affiche 61**Étude structurale des dendrimères pamam et de leur association avec le polyu par des techniques de diffusion de rayonnements**

L. Zerrad¹, A. Kikhney², A. Round², D. Svergun², L. Peng¹ et F. Bonneté¹

¹CINaM-CNRS (Marseille-France), UPR 3118, Campus de Luminy, 13288 Marseille, ²EMBL, Hamburg Outstation, Building 25A, Notkestrasse, 85, 22603 Hamburg, Germany

Les dendrimères polyamidoamine (PAMAM) sont des macromolécules dendritiques. Synthétisée pour la première fois en 1984 [1], cette nouvelle catégorie de polymères possède un grand nombre de propriétés intéressantes comme de nombreuses fonctions chimiques en surface, monodispersité, faible cytotoxicité, taille nanométrique.

Ces macromolécules ont des applications potentielles importantes dans plusieurs domaines scientifiques, en particulier dans le domaine biomédical, en tant que vecteurs d'acides nucléiques [2]. Récemment, des chercheurs du groupe ont mis en évidence l'efficacité des dendrimères PAMAM pour transporter un gène d'un grand intérêt en thérapie génique : le siRNA [3-4].

Le but de ce travail est de déterminer les propriétés structurales de deux classes de dendrimères PAMAM sous différentes conditions et d'étudier leur association avec un acide nucléique simple (le polyU) parce qu'il a été montré dans la littérature [5] que la capacité du dendrimère PAMAM à transporter un gène dans une cellule dépendait de ses propriétés structurales. Les techniques SAXS et DLS nous ont permis de caractériser leur comportement en solution [6-7] et de déterminer leurs dimensions (R_h , R_g), volume (V_p), forme (modélisation *Ab Initio*), les interactions électrostatiques (A_2) et leur distribution en taille ($v\%$).

Références :

1. DA Tomalia, MJ Frechet - *Journal of Polymer Science Part A Polymer Chemistry*, 2002
2. Svenson, DA Tomalia - *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2005
3. Wu, J. Y.; Zhou, J. H.; Qu, F. Q.; Bao, P. H.; Zhang, Y.; Peng, L. *Chem. Commun.* 2005, 313
4. J Zhou, J Wu, N Hafdi, JP Behr, P Erbacher, L Peng - *Chemical Communications*, 2006
5. C. Dufes et al, *Advanced Drug Delivery Reviews* 57 (2005) 2177–2202
6. Bonneté, F; Finet, S; Tardieu, A.J. *Crystal Growth*, 196 (1999),403
7. MV Petoukhov, DI Svergun - *Journal of Applied Crystallography*, 2003

– G.G.M.M. — Dynamique et modélisation –

Affiche 62**Influence de la conformation de la tête polaire carbohydrate sur les propriétés structurales et dynamiques des micelles de lauryl dodecyl maltoside : une étude de simulation de dynamique moléculaire**S. Abel et M. Marchi

DSV, iBiTecS, Service de Bioénergétique Biologie Structurale et Mécanismes (SB2SM), 91191 Gif-sur-Yvette, France

Parmi tous les détergents disponibles pour extraire et solubiliser les protéines membranaires, les alkyles-glycosides sont en passe de devenir un des type de détergents les plus utilisés pour la solubilisation douce des protéines membranaires. C'est notamment le cas du lauryl dodecyl maltoside (LDM) qui existe sous deux formes isomères, alpha et beta, correspondant à des conformations différentes de la tête polaire du détergent (i.e. coudée pour alpha et étendue pour beta). Les propriétés de ces isomères sont assez différentes, en ce qui concerne les concentrations micellaires critiques, le nombre moyen de détergents par micelle, et les capacités dénaturantes de ces amphiphiles pour les protéines membranaires. Dans le but de mieux comprendre l'influence de la conformation tête polaire du détergent sur la structure des micelles, nous avons examiné à l'aide de simulations de dynamique moléculaires explicites dans les conditions ambiantes ($P = 0.1$ MPa et $T = 297$ K), les propriétés structurales deux modèles réalistes de micelles de LDM avec les deux conformations pour la tête polaire des détergents. Nous verrons comment celles-ci influencent la structure des micelles et les propriétés statiques et dynamiques de l'eau à l'interface micelle/solvant.

Affiche 63**A combination of rigid and flexible docking for elucidating complexes involving DARC interceptor, a multispecific seven-transmembrane helices receptor**L. Autin, A. de Brevern et C. Etchebest

UMR-S 726 INSERM PARIS-DIDEROT

The **DARC** protein (Duffy antigen/receptor for chemokine) is an erythrocyte 7 TM-receptor that binds chemokines but also malaria parasites (*Plasmodium vivax* and *Plasmodium knowlesi*). In contrast to other chemokine receptors, DARC is promiscuous and is able to bind CC chemokines classes e.g RANTES and CXC-L8 chemokines. Biological data show that the four extracellular domains (ECDs) of DARC are essential for its interaction with chemokines, whilst the first (ECD1) is sufficient for the interaction with malaria erythrocyte-binding protein (duffy binding protein DBP). Importantly, ECD1 domain is a **highly flexible** 50 residues peptide with two sulfated tyrosines.

To further understand the interaction between DARC and its ligands, we have tested different docking strategies. Starting from a 3D structural model of DARC (de Brevern et al, 2005), including ECD1 in a free state structure, we explored the binding sites of *Plasmodium vivax* DBP and CXC-L8. In both cases, a rigid-body docking failed to find a solution compatible with all the experimental data.

Then, we have elaborated an original protocol, combining semi-flexible and semi-rigid dockings that take account ECD1 flexibility: i) the flexible ECD1 domain is independently docked on a rigid ligand using the flexible docking tools of ICM (Molsoft) ii) in parallel, the rigid ligand is docked on the rigid transmembrane domain iii) solutions from both steps are combined and only those compatible with bond constraints between ECD1 and TM1 are selected. This approach yields a 3D-model for DARC-CXC-L8 and DARC-DBP complexes, both consistent with available experimental data. Such models permit us to identify and predict potential residue target for mutagenesis, and to define the area of interaction for receptor and both ligands.

Affiche 64**Influence of the substrates on the hinge bending motion of human 3-phosphoglycerate kinase**E. Balog¹, Z. Palmay¹, L. Chaloin², P. Lallemand², C. Lionne², J. Fidy¹ et D. Perahia³

¹Department of Biophysics and Radiation Biology, Faculty of Medicine, Semmelweis University, Budapest, Pf. 263, Hungary, ²Centre d'études d'agents Pathogènes et Biotechnologies pour la Santé (CPBS), UMR 5236, CNRS–Université Montpellier 1/2, Institut de Biologie, 4 bd Henri IV, CS69033, 34965 Montpellier cedex 2, France, ³Laboratoire de Modélisation et d'Ingénierie des Protéines, Université Paris-Sud, Bat 430, 91405 Orsay, France

3-phosphoglycerate kinase (PGK) is a monomeric enzyme composed of two globular domains: the N-terminal domain binds 1,3-bisphosphoglycerate (bPG) and the C-terminal domain contains the nucleotide binding site. It is ubiquitously expressed in all living organisms and plays a key role in glycolysis (production of ATP). In addition, PGK was found to be involved in the phosphorylation of antiviral prodrugs. In order to transfer a phosphate group from bPG to ADP, the enzyme has to undergo an extensive hinge bending motion from the open to the closed conformation that leads to the approximation of the two substrates. Molecular dynamics simulation was used to determine the effect of ligand binding on the domain motions of this enzyme. The simulation indicates the presence of a small amplitude hinge bending motion in the ns timescale with the apoenzyme while the time period of the hinge bending motion of the ternary complex (PGK•bPG•ADP) is clearly over the 20 ns simulation time. The apoenzyme is more flexible than the ternary complex and there are more hinge points that contribute to the hinge bending motion. Upon binding of the ligands, the motion becomes more constrained in a single direction with one dominant hinge in the vicinity of the substrates. In this study, we show the usefulness of molecular dynamics simulation for the characterization of large concerted domain motions and the effect of substrate binding on these motions. We also report how the substrates influence the correlations of the internal motions within domains, which are biologically relevant for the function of PGK. This theoretical characterization should help in predicting the efficiency of phosphorylation of nucleoside analogues used as therapeutics.

Affiche 65**Insights into dynamic character of *Burkholderia cepacia* lipase by molecular modelling and robotic-based path planning approaches**S. Barbe¹, V. Lafaquière¹, D. Guieysse¹, J. Cortés², P. Monsan¹, T. Siméon², M. Remaud-Siméon¹ et I. André¹

¹UMR5504, UMR792 Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés, CNRS, INRA, INSA, 31400 Toulouse, France., ²LAAS-CNRS, 7, avenue du Colonel-Roche, 31077 Toulouse, France.

The use of enzymes as biocatalysts is of a great industrial interest for the preparation of chiral building blocks, especially by kinetic resolution of racemic mixtures. In this field, lipases are among the most employed enzymes. Widely distributed in nature, these enzymes catalyze the hydrolysis and the synthesis of a wide range of soluble and insoluble organic compounds, making them potential catalysts for a wide variety of applications in chemical, pharmaceutical and food industries. The interest of using lipases lies in their enantioselectivity which has been shown to be modulated by reaction conditions. Nonetheless, structural determinants and molecular motions controlling lipase activity and selectivity are not yet fully understood.

In this context, we studied the role of the movement of a sub-domain covering the active site of *Burkholderia cepacia* lipase (BCL) on its activation as well as the influence of the substrate accessibility to BCL active site on the enzyme enantioselectivity. Atomic-resolution of such slow-timescale molecular motions is out of reach for currently available experimental techniques. Therefore, computational methods are needed to complement experimentation. For this purpose, a mixed approach combining both molecular modelling techniques and motion planning algorithms originally used in robotics was developed by the LAAS-CNRS and applied to investigate BCL molecular motions. Compared to classical molecular modelling techniques, this novel approach allowed a performance gain of several orders of magnitude (hours vs weeks) to compute continuous large amplitude protein motions in solvent environment and accessibility pathways of substrates from the protein surface to a buried protein active site.

Computational simulations were used to drive directed mutagenesis experiments to enhance lipase activity and enantioselectivity further. At a more general level, this fast technique could be used as a pre-filtering procedure to select a catalyst or accelerate the engineering of a given catalyst for a given racemate resolution.

Affiche 66**Nouveaux outils pour le calcul objectif de structures RMN et pour une annotation fonctionnelle correcte des protéines : le cas de la coordination du Zinc**A. Bernard¹, B. Bardiaux¹, M. Sattler² et M. Nilges¹¹Institut Pasteur – Unité de Bioinformatique Structurale – URA CNRS 2185, ²EMBL Heidelberg, Meyerhofstrasse 1, 69117 Heidelberg, Germany

La RMN est une méthode largement utilisée pour la détermination des structures de protéines en solution. Le développement de cette approche dans le cadre de la protéomique structurale est néanmoins entravé par des erreurs dans les structures dues au manque d'objectivité dans l'utilisation des données mesurées expérimentalement. Des outils ont récemment été développés: une forme log-harmonique du potentiel de contraintes de distance et le réseau d'encrage "network-anchoring", et peuvent aider à répondre à ce point.

Une importante source d'erreur dans les structures RMN est la détermination incorrecte des ponts disulfures ou de la coordination du Zinc. Nous montrerons comment le potentiel log-harmonique ainsi que le réseau d'encrage peuvent déterminer la coordination du Zinc dans le domaine MYND, qui est un domaine conservé dans de nombreuses protéines impliquées dans le développement ou associées à des cancers. Dans le domaine MYND, les deux sites de coordination du Zinc, définis par sept cystéines et une histidine, peuvent adopter une topologie séquentielle ou croisée, qui détermine l'appartenance du domaine à une parmi deux familles distinctes de protéines. La détermination correcte de la coordination des Zincs n'est donc pas seulement importante pour la précision de la structure, mais aussi pour l'annotation fonctionnelle de la protéine.

Le potentiel log-harmonique et le réseau d'ancrage, associés à une analyse postérieure de la qualité des structures, permettent de choisir la topologie correcte de la coordination des Zinc. Ces deux outils sont déjà ou seront bientôt disponibles dans ARIA (aria.pasteur.fr).

Affiche 67**“Restrained” molecular dynamics simulations: a helpful tool in docking protocols**S. Bourg¹, D. Genest², N. Garnier², M. Genest², C. Marot³ et L. Morin-Allory³¹Fédération de Recherche “Physique Chimie du Vivant” CNRS 2708, Rue Charles Sadron, 45071 Orléans cedex 2, France, ²Centre de Biophysique Moléculaire (affiliated to the University of Orléans and to INSERM), CNRS, Rue Charles Sadron, 45071 Orléans cedex 2, France, ³Institut de Chimie Organique et Analytique, CNRS - Université d'Orléans, BP 6759, Rue de Chartres, 45067 Orléans cedex 2, France

Docking is used as a virtual screening tool in order to identify potential ligands, among larger and larger compound libraries, for receptors whose 3D structure is resolved.

Molecular dynamics simulation is a well known technique to study such receptors, their dynamic behaviour and to explore their conformational space.

Therefore rational drug design takes advantage of combining those two techniques (1).

Explicit solvent molecular dynamics (MD) simulations have been achieved on PPARgamma receptor in order to take into account protein flexibility in a “scoring model” study (2).

We will present a technique of restrained MD simulation in the gas phase, where solvent is replaced by tuned position constraints on chosen alpha carbon atoms, allowing the exploration of the receptor conformational space in shorter time than within explicit solvent simulations (by a factor of about 5 to 10). The role of the restrains is to maintain the position and dynamics on the chosen alpha carbons.

To conclude this time saving will make realistic the use of MD simulations in routine, within docking projects.

References:

1: Combining Docking and Molecular Dynamic Simulations in Drug Design, H. Alonso, A. A. Bliznyuk, J. E. Gready, *Med. Res. Rev.*, **2006**, 26 (5), 531-568

2: Docking-scoring strategies assisted by data analysis. Application to virtual screening of COX-2 and PPARgamma therapeutical targets, A. Arrault, Thesis, Université d'Orléans, 2007

Affiche 68**Modélisation à l'échelle atomique de la flexibilité biomoléculaire par la méthode des Modes Statiques**

M. Brut, G. Renvez, A. Estève, M. Djafari Rouhani et G. Landa

LAAS-CNRS, Université de Toulouse, 7 avenue du Colonel Roche 31077 Toulouse

Nous proposons une nouvelle méthode pour le traitement de la flexibilité macromoléculaire à l'échelle atomique appelée Méthode des Modes Statiques. Cette méthode est fondée sur le concept de l'"induced-fit", *i.e.* elle cartographie les déformations intrinsèques d'une macromolécule assujettie à des excitations extérieures. L'algorithme permet d'obtenir, à partir des constantes de force contenues dans le modèle énergétique, un ensemble de déformations, chacune correspondant à une interaction spécifique sur un site spécifique. Dans ce cadre, les interactions inter ou intra moléculaires peuvent être exprimées en termes de sites d'interaction, les déformations moléculaires induites étant extraites des Modes Statiques préalablement calculés pour chaque molécule. Des exemples préliminaires de ces calculs sur divers types de molécules, peptides, nucléotides, polymères, visent à illustrer les applications potentielles de la méthode, particulièrement celles où la modélisation prédictive passe par une prise en compte de la flexibilité moléculaire : docking, allostérie, effets de mutations...

Affiche 69**Simulation de dynamique moléculaire de l'urate oxydase en présence de xénon : un aperçu des perturbations entraînées par les gaz anesthésiques**

F. Dulin¹, J. Sopkova-de Oliveira Santos², G. Monard³, J. H. Abraini¹ et N. Colloc'h¹

¹CI-NAPS, UMR 6232 – UCBN – CNRS, Centre CYCERON, Bd. Henri Becquerel, 14074 Caen Cedex, FRANCE,

²Centre d'Etudes et de Recherche sur le Médicament de Normandie (CERMN) UPRES EA 4258 5, rue Vaubénard, 14032 CAEN Cedex FRANCE, ³Equipe de Chimie et Biochimie Théoriques UMR 7565 SRSMC - CNRS, UHP Université Henri Poincaré - Nancy I Faculté des Sciences - B.P. 239 F54506 Vandoeuvre-les-Nancy Cedex FRANCE

Les mécanismes par lesquels les gaz anesthésiques exercent leurs actions sur le système nerveux central commencent seulement à être élucidés. Le xénon et le protoxyde d'azote inhiberaient le récepteur NMDA, mais perturberaient également le fonctionnement de certaines protéines globulaires. Les travaux du laboratoire ont montré que ces deux gaz pouvaient se lier à l'urate oxydase (UOX), protéine type pour étudier les effets des gaz sur les cibles intracellulaires. Les gaz se fixent dans une cavité de taille importante localisée à côté du site actif. Pour comprendre l'effet du xénon sur le fonctionnement de l'enzyme, nous avons réalisé deux simulations de dynamique moléculaire en utilisant les coordonnées cristallographiques du tétramère de l'UOX en présence ou non du xénon. En moyenne, les fluctuations atomiques sont plus élevées lors de la simulation en présence de xénon. Pour les deux simulations, les quatre monomères évoluent différemment et plus particulièrement par paires. Trois segments présentent des fluctuations plus élevées, le plus long recouvrant la cavité hydrophobe. L'analyse des matrices de corrélations met en évidence une forte corrélation entre le site actif, la cavité hydrophobe et la boucle les reliant, le site actif restant stable pendant les simulations. Nous avons essayé de comprendre comment se comporte la cavité hydrophobe pendant la simulation en estimant son volume. Sans xénon, la cavité disparaît ponctuellement alors qu'en présence de xénon son volume croît et la cavité a tendance à fusionner avec le site actif ou s'ouvrir vers l'extérieur. Cette différence dans le comportement de la cavité pourrait expliquer comment le xénon pourrait perturber l'activité de l'UOX.

Affiche 70**Structural dynamics of RXR ligand-binding domain: a MD study**

G. Marchetti et A. Dejaegere

Department of Structural Biology and Genomics - Biocomputing, IGBMC, Illkirch, France

Signalling by nuclear receptors (NRs) is one of the major signal transduction paradigms invented by metazoans to regulate gene transcription. The most prominent feature differentiating them from other transcription factors is their capacity to bind small hydrophobic molecules specifically. Molecular and structural studies reveal that these ligands constitute regulatory signals, which modify the NR transcriptional activity through conformational changes.

Prototypical NRs share a common structural organization with a variable amino-terminal (Nter) domain, a conserved DNA-binding domain (DBD) and a C-terminal (Cter) ligand-binding domain (LBD). From a regulatory point of view, the LBD is the most important domain, containing both the ligand-binding pocket and the ligand-dependent transactivation function.

We use molecular simulations to study the molecular mechanism of ligand recognition and ligand induced conformational changes in the retinoic acid receptor. RXR LBD is known to undergo a structural change that involves its Cter helix (helix H12) between the apo form and ligand bound form. Recent work suggest that this conformational transition has repercussion that extend further than helix H12 and the amino acids in direct contact with it, and affect the global dynamics of the LBD.

We use molecular dynamics to highlight dynamic links between H12 and distant amino acids.

The implications of the MD simulations for the mechanism of ligand activation and allosteric communication in RXR will be discussed.

Affiche 71**Études structurales du mimétisme d'antigènes polysaccharidiques bactériens par des oligosaccharides et des peptides: le modèle de *Shigella flexneri* 2a**F.-X. Theillet¹, C. Simenel¹, A. Phalipon², L. Mulard³, B. Vulliez-Lenormand⁴, G. Bentley⁴ et M. Delepierre¹

¹Unité de RMN des Biomolécules, URA CNRS 2185, Institut Pasteur, 25-28 rue du Docteur Roux, 75015 Paris, ²Unité de Pathogénie Microbienne Moléculaire, INSERM U389, Institut Pasteur, 25-28 rue du Docteur Roux, 75015 Paris, ³Unité Postulante de Chimie des Biomolécules, URA CNRS 2128, Institut Pasteur, 25-28 rue du Docteur Roux, 75015 Paris, ⁴Unité d'Immunologie Structurale, URA CNRS 2185, Institut Pasteur, 25-28 rue du Docteur Roux, 75015 Paris

L'Antigène-O (Ag-O) du lipopolysaccharide (LPS) est le principal antigène de surface de la bactérie gram-négative *S. flexneri* 2a, responsable de dysenteries bacillaires. Cet Ag-O est la cible de la réponse humorale de l'hôte lors de l'infection.

Des stratégies de vaccins ont été développées autour de l'utilisation de l'Ag-O comme antigène protecteur. Des glycoconjugués incorporant le LPS détoxifié couplé à une protéine porteuse ont été élaborés. D'autre part, des mimes fonctionnels de l'Ag-O de *S. flexneri* 2a ont été identifiés : certains oligosaccharides fragments de l'Ag-O utilisés comme glycoconjugués induisent des anticorps anti-Ag-O.

Parallèlement, des peptides mimes ont été sélectionnés par criblage sur des anticorps anti-Ag-O de *S. flexneri* 2a. De manière inhabituelle, ces mimes n'induisent pas de réponse anti-Ag-O.

Afin de comprendre les mécanismes moléculaires du mimétisme, fonctionnel ou non, de l'Ag-O par des oligosaccharides ou des peptides, nous avons mené des études structurales (RX, RMN, MD) et biophysiques des interactions (RPS, ITC, fluorimétrie stopped-flow).

Les analyses conformationnelles de nombreux oligosaccharides fragments de l'Ag-O, libres et liés à un anticorps monoclonal, nous ont permis de mettre en évidence les rôles des structures saccharidiques et des comportements conformationnels dans la reconnaissance par l'anticorps.

Concernant l'approche peptidique, les structures des complexes mime-anticorps obtenues nous permettent une réflexion renouvelée sur la réponse immunitaire aux carbohydrates et à leurs mimes. Cela nous permet d'avancer de nouvelles hypothèses dans la conception de peptides mimes fonctionnels d'antigènes polysaccharidiques, en insistant sur l'importance de la sélection positive des gènes germinaux des anticorps isolés.

– ***Index des auteurs*** –

Index des auteurs

- Abel S. 109
 Abi Ghanem J. 12, 61
 Abraini J. H. 80, 112
 Alric J. 43, 95
 Altschuh D. 103
 Andre A. 99
 André I. 55, 110
 Armengaud J. 62
 Arold S. 28, 36, 67, 79, 83
 Artzner F. 104
 Asnacios A. 39
 Assairi L. 87
 Asseline U. 12, 63
 Atkinson R. A. 88
 Auguin D. 28, 67
 Autin L. 56, 109
 Averlant-Petit M.-C. 86
 Ayala I. 27, 68
 Aymerich S. 79
- Balland M. 39
 Balog E. 110
 Bancaud A. 47, 99
 Barbe S. 55, 110
 Barbi M. 23, 47, 99
 Bardiaux B. 51, 111
 Barman T. 36, 83
 Baud S. 55
 Baudin-Creuzat V. 83
 Bayle S. 62
 Bazin H. 71
 Beal D. 43, 95
 Beaufils C. 86
 Belle V. 35, 79
 Belloy N. 55
 Bentley G. 113
 Bernacchi S. 16, 62, 100
 Bernard A. 51, 111
 Bertaux N. 39
 Block M. 40, 92
 Blondeau K. 81
 Blouquit Y. 85, 87, 88
 Boisbouvier J. 27, 68
 Bompard C. 87
 Bonnet D. 80
 Bonneté F. 31, 71, 106
 Bontems F. 36, 84
 Bornot A. 74
 Boschi-Muller S. 86
 Boudsocq F. 28, 67
- Boulanger P. 48, 100–102
 Bourg S. 52, 111
 Boze H. 86
 Branlant G. 86
 Briane D. 105
 Brut M. 52, 112
 Brutscher B. 27
 Buckle M. 23
 Buosi V. 35
 Burnouf D. 19, 61
 Buzhynskyy N. 32, 73
- Caillat C. 103
 Campagne S. 101
 Canon F. 86
 Cao A. 105
 Carelli C. 105
 Castro B. 80
 Cavailles V. 92
 Cazaux C. 28, 67
 Céraline J. 88
 Chaillet M. 81
 Chaix D. 79
 Chaloin L. 36, 83, 85, 110
 Charbonnier J.-B. 85, 87
 Charvolin D. 32, 72
 Cherfils J. 35
 Cheynier V. 86
 Chiadmi M. 80
 Chopineau J. 48, 62, 104
 Choulier L. 103
 Cintrat J.-C. 24, 64
 Coïc Y.-M. 105
 Colloc'h N. 80, 112
 Combet S. 82
 Conchonaud F. 39
 Conde e Silva N. 47, 99
 Confalonieri F. 100
 Conway J. 48, 102
 Cortés J. 55, 110
 Costanzo S. 35, 79
 Cox J. A. 87
 Craescu C. T. 85, 87, 88
 Culard F. 12, 63
 Cung M.-T. 86
 Cusack S. 47
 Czaplicki J. 28, 67, 75
- Dambon C. 82
 Dardel F. 15
 Dauchez M. 55
 Dausse E. 11
 David C. 81
 de Brevern A. 56, 74, 109
 de Frutos M. 100, 101
 Debelle L. 55
 Declerck N. 79, 91
 Decottignies P. 48, 102
 Dejaegere A. 56, 113
 Delepierre M. 113
 Delsuc M.-A. 86
 Derreumaux P. 55
 Desbat B. 105
 Desmadril M. 82
 Desprat N. 39
 Dessen A. 36, 84
 Destainville N. 102
 Dewitte F. 87
 Di Primo C. 11
 Djafari Rouhani M. 52, 112
 Dubois R. 43, 95
 Duca L. 55
 Duchambon D. 85
 Dulin F. 112
 Dumas P. 16, 19, 61, 62
 Dumontet C. 85
 Duneau J.-P. 72
 Durand D. 81, 85
 Durroux T. 71
 Durussel I. 87
- Ebel C. 32, 72
 Eckert K. 103
 Ehrig J. 40, 91
 El Hajji M. 80
 Enescu M. 81
 Engelman D. 32, 72
 Ennifar E. 16, 62
 Eriani G. 63
 Estève A. 52, 112
 Etchebest C. 56, 74, 109
- Fabry C. 47
 Favard C. 40, 91
 Fay N. 104
 Fender P. 47
 Ferguson M. 91
 Fidy J. 110
 Fischer B. 43
- Dagher R. 80
 Dahmane T. 32, 72

- Flisiak S. 35
Floquet N. 55
Foley S. 81
Fournel A. 35, 79
Freisz S. 16, 62
Fribourg S. 11
- Gabison L. 80
Gaibelet G. 99
Gallet F. 39
Gans P. 27, 68
Garnier N. 52, 111
Genest D. 52, 84, 111
Genest M. 52, 111
Gervais V. 28, 67, 101
Ghibaudo M. 39
Ghomi M. 105
Gibrat G. 82
Giudici-Ortoni M.-T. 44, 95, 96
Giuliani M.-C. 44, 95, 96
Gohon Y. 32, 72
Gondeau C. 36, 83
Graner F. 40, 92
Grigoriev M. 103
Gruszczuk J. 82
Guibert B. 35
Guieysse D. 55, 110
Guigliarelli B. 35, 79
Guillou H. 40, 92
Guiral M. 44, 95, 96
Guiroy A. 39
Guittet E. 35
Guo X.-J. 39
- Haanappel E. 102
Habauzit D. 62
Haiech J. 80
Haj Slimane Z. 48, 102
Hamdane D. 83
Hamon Y. 39
Hartmann B. 12, 61
Hazan C. 28, 67
He H.-T. 39
Heddi B. 12, 61
Hénon S. 39
Hernandez B. 105
Hibert M. 80
Hideg E. 43
Hubert J.-F. 105
Huet A. 48, 102
Hui-Bon-Hoa G. 83
- Icard-Arcizet D. 39
Imberly A. 51
Infossi P. 44, 95, 96
- Jalaguier S. 92
Johnson X. 43, 95
Jolibois F. 75
Jungas C. 31, 71
- Käfer J. 40, 92
Khao J. 72
Kieffer B. 88
Kikhney A. 106
Kilhoffer M.-C. 80
Klaholz B. 19, 63
Kremer E. 47
Krieger-Liszkay A. 43
- Ladant D. 48, 104
Ladoux B. 39
Lafaquière V. 55, 73, 74, 110
Lallemant P. 36, 83, 85, 110
Lancelot G. 12, 63
Landa G. 52, 112
Landon C. 82
Larbouret C. 71
Lavelle C. 47, 99
Lazzarelli C. 48, 104
Le Cam E. 47, 99
Le Coq D. 79
Le Du M. H. 85
Le Rumeur E. 105
Lebars I. 11
Lebrun C. 99, 102
Lebrun P. 87
Lecomte S. 104
Legardinier S. 105
Legrand B. 82
Leguilhem K. 79
Leh H. 23
Lenne P. F. 40, 91
Letellier L. 48, 100–102
Leulliot N. 81
Lionne C. 36, 83, 85, 110
Locht C. 87
Longhi S. 35, 79
Lopez A. 99
Lopez-Crapez E. 71
- Macheboëuf P. 36, 84
Maechling C. 16, 62
Mangenot S. 32, 73
Manghi M. 102
Marassio G. 80
Marchetti G. 56, 113
Marchi M. 109
Marden M. 83
Margeat E. 11, 92
Marguet D. 39
Marlin T. 86
Marot C. 52, 111
Marquet R. 16, 62, 100
Martin F. 63
Martiny L. 55
Mathis G. 71
Mauroy C. 102
Mazeres S. 102
Mazier S. 84
Menozzi F. 87
Mercenne G. 100
- Meurillon M. 85
Meyer P. 103
Millot C. 99
Milon A. 28, 67, 73–75, 101
Miron S. 85
Mitrossilis D. 39
Monard G. 80, 112
Monge A. 88
Monsan P. 55, 110
Moréra S. 103
Morin-Allory L. 52, 111
Mousseau G. 24, 64
Mozziconacci J. 23, 47, 99
Mulard L. 113
Muller I. 73, 74
- Nicaise M. 103
Nilges M. 51, 111
Noguchi M. 28, 67
Nogues C. 23
Nominé Y. 103
- Ochsenbein F. 24, 64
Olliver A. 15
- Paillart J.-C. 100
Palmai Z. 110
Pandit A. 104
Papin C. 103
Paquet F. 12, 63
Paris C. 82
Pate F. 86
Paternostre M. 104
Pèleguin A. 71
Peng L. 106
Perahia D. 110
Pérez J. 36, 84
Périgaud C. 36, 83, 85
Peyrottes S. 85
Peyrusson F. 71
Phalipon A. 113
Pigault C. 80
Piller V. 82
Pin S. 24, 64
Piuze M. 36, 84
Planus E. 40, 92
Ponchet M. 82
Ponchon L. 15
Popot J.-L. 32, 72
Pouget E. 104
Prangé T. 80
Preira P. 31, 71
Prongidi-Fix L. 63
Prunetti L. 44, 95
Pugniere M. 62
Pylouster J. 74
- Quinternet M. 86
- Radu L. 87
Raffy Q. 24, 64
Rappaport F. 32, 72

- Raspaut E. 100, 101
Raze D. 87
Réat V. 75
Receveur-Brechot V. 87
Recouvreux P. 47, 99
Remaud-Siméon M. 55, 110
Renault A. 105
Renault J.-P. 24, 64
Renault M. 73, 74
Renvez G. 52, 112
Richer D. 100
Rigneault H. 39, 40, 91
Roig B. 62
Ropars V. 28, 67
Rossi C. 48, 104
Rouger S. 35, 79
Rougier L. 75
Roumestand C. 28, 67
Round A. 106
Rousseau B. 24, 64
Roussel P. 43, 95
Roy B. 36, 83
Royer C. 79, 91, 92
Rucktooa P. 87
Ruigrock R. 32, 72
Ruigrok R. 47
- Saez A. 39
Saggioro C. 15
Salomé L. 102
Sao-José C. 101
Sarni-Manchado P. 86
Sarramégna V. 73, 74
- Sattler M. 51, 111
Sauliere A. 99
Saurel O. 28, 67, 75
Savatier J. 92
Scheuring S. 32, 73
Schoehn G. 47
Schuck P. 32, 72
Sclavi B. 15
Sebai S. 73, 74
Selme L. 86
Sergé A. 39
Simenel C. 113
Siméon T. 55, 110
Sophie C. 103
Sopkova-de Oliveira Santos J.
112
Sounier R. 27, 68
Spotheim-Maurizot M. 84
Staedelin M. 100
Stancar J. 35, 79
Stern M.-H. 28, 67
Sturgis J. 31, 72
Svergun D. 106
- Tagounits A. 105
Talmont F. 73, 74
Tavares P. 101
Thai R. 24, 64
Theillet F.-X. 113
Thureau A. 35
Timmins P. 32, 72
Toulmé J.-J. 11
Travé G. 103
- Tribet C. 32, 72
Tsan P. 86
- Ulryck N. 81
Unipan L. 88
- Vachette P. 36, 84
Valérie C. 104
van Heijenoort C. 35
van Tilbeurgh H. 81
Vandystadt G. 43, 95
Vasseur C. 83
Vianay B. 40, 92
Victor J.-M. 23, 47, 99
Vié V. 105
Villa P. 80
Villeret V. 87
Viovy J.-L. 47, 99
Vovelle F. 82
Vulliez-Lenormand B. 113
- Wagner G. 47, 99
Wang Y.-H. 88
Wenger J. 40, 91
Wong H. 23, 47, 99
- Ychou M. 71
- Zeeh J.-C. 35
Zeghouf M. 35
Zerrad L. 106
Zivanovic Y. 100
Zorrilla S. 79

– Liste des participants –

Liste des participants

ABEL Stephane

CEA Saclay
DSV/iBiTEC-S/SB2SM
Bat 528 Pièce 14
91191 Gif-sur-Yvette
Email : stephane.abel@cea.fr
Tél : 01 69 86 23 11
Fax : 01 69 86 43 89

ABI GHANEM Josephine

9E, Boulevard Jourdan
CIUP- Maison du Liban
75014 Paris
Email : josephineag@hotmail.com
Tél : 06 28 07 25 71

ALRIC Jean

Institut de Biologie Physico-Chimique
13, rue Pierre et Marie Curie
75005 Paris
Email : jean.alric@ibpc.fr
Tél : 01 58 41 51 13
Fax : 01 58 41 50 22

BARBE Sophie

LISBP- Groupe de Catalyse et Ingénierie Moléculaire
Enzymatiques
UMR INSA-CNRS 5504/ UMR INSA-INRA 792
135, avenue de Rangueil
31077 Toulouse
Email : sbarbe@insa-toulouse.fr
Tél : 05 61 55 99 63
Fax : 05 61 55 94 00

BAZIN Hervé

HTRF R&D
BP 84175
30204 Bagnols-sur-Cèze
Email : hbazin@cisbio.com
Tél : 04 66 79 68 91

BENHADDOUCHE Karima

01, Ahmed Kara
Bir Mourad Rais
16000 Alger
Algérie
Email : fchekroun@yahoo.fr
Tél : +213770529256

BERNACCHI Serena

UPR 9002 CNRS
ULP, IBMC
15 rue René Descartes
67084 Strasbourg
Email : s.bernacchi@ibmc.u-strasbg.fr
Tél : 03 88 41 70 40
Fax : 03 88 60 22 18

BERNARD Aymeric

Institut Pasteur
Unité de Bioinformatique Structurale
25-28 rue du Docteur Roux
75015 Paris
Email : aymeric@pasteur.fr
Tél : 01 40 61 34 75
Fax : 01 45 68 87 19

BONNETÉ Françoise

CINaM CNRS UPR 118
campus de luminy
case 913
13288 Marseille
Email : bonnete@cinam.univ-mrs.fr
Tél : 06 62 92 28 39
Fax : 04 91 41 89 16

BOULANGER Pascale

IBBMC
CNRS UMR8619
Université Paris-Sud, Bât.430
91405 Orsay
Email : pascale.boulanger@u-psud.fr
Tél : 01 69 15 63 40
Fax : 01 69 85 37 15

BRUSCHI Mireille

Laboratoire de Bioénergétique et Ingénierie des Protéines
CNRS
31 Chemin Joseph Aiguier
13402 Marseille
Email : bruschi@ibsm.cnrs-mrs.fr
Tél : 04 91 16 41 44
Fax : 04 91 77 95 17

BRUT Marie

7 Avenue du Colonel Roche
31077 Toulouse
Email : mbrut@laas.fr
Tél : 05 61 33 62 00
Fax : 05 61 55 35 77

BRUTSCHER Bernhard

Institut de Biologie Structurale - J.-P. Ebel
41, rue Jules Horowitz
38027 Grenoble
Email : bernhard.brutscher@ibs.fr
Tél : 04 38 78 95 62
Fax : 04 38 78 54 94

BUCKLE Malcolm

LBPA ENS (Cachan)
61 Ave. Du Pr. Wilson
94235 Cachan
Email : buckle@lbpa.ens-cachan.fr
Tél : 01 47 40 76 73
Fax : 01 47 40 76 84

CAMPAGNE Sébastien

205 route de narbonne
31400 Toulouse
Email : campagne@ipbs.fr
Tél : 05 61 17 54 05

CHALOIN Laurent

UMR5236 - CNRS - UM1/2 - Institut de Biologie
4 Boulevard Henri IV - CS69033
34965 Montpellier
Email : laurent.chaloin@univ-montp1.fr
Tél : 04 67 60 02 31
Fax : 04 67 60 44 20

CHERFILS Jacqueline

Laboratoire d'Enzymologie et Biochimie Structurales
Bâtiment 34, CNRS, Avenue de la Terrasse
91198 Gif-sur-Yvette
Email : cherfils@lebs.cnrs-gif.fr
Tél : 01 69 82 34 77
Fax : 01 69 82 31 29

CHOPINEAU Joël

Université de Nîmes
rue docteur georges salan
30000 Nîmes
Email : joel.chopineau@unimes.fr
Tél : 04 66 27 95 63
Fax : 04 66 27 95 54

COLLOC'H Nathalie

Ci-NAPS UMR 6232 - UCBN - CNRS - CEA
Centre Cyceron
boulevard Becquerel
14074 Caen
Email : colloch@cyceron.fr
Tél : 02 31 47 01 32
Fax : 02 31 47 02 22

COMBET-JEANCENEL Sophie

Laboratoire Léon-Brillouin
Bâtiment 563
CEA/Saclay
91191 Gif-sur-Yvette
Email : sophie.combet@cea.fr
Tél : 01 69 08 67 20
Fax : 01 69 08 82 61

CRAESCU Constantin

INSERM U759/Institut Curie, Centre Universitaire Paris-Sud
Bâtiment 112
91405 Orsay
Email : gil.craescu@curie.fr
Tél : 01 69 86 31 63
Fax : 01 69 07 53 27

CZAPLICKI Georges

IPBS - CNRS
205, route de Narbonne
31077 Toulouse
Email : cgeorge@ipbs.fr
Tél : 05 61 17 54 04
Fax : 05 61 17 54 04

DAGHER Rania

Université Louis-Pasteur, Strasbourg I
UMR 7175-Laboratoire de Chimio génomique et Pharmacogénomique
Faculté de Pharmacie
74, route du Rhin
67400 Illkirch
Email : rania.dagher@pharma.u-strasbg.fr
Tél : 03 90 24 42 54

DAUCHEZ Manuel

Laboratoire SirMa, CNRS UMR 6237 MEDyC
UFR Sciences, Université de Reims Champagne Ardenne
Moulin de la Housse
BP 1039
54687 Reims
Email : manuel.dauchez@univ-reims.fr
Tél : 03 26 91 33 20
Fax : 03 26 91 83 66

DAVID Catalina

Laboratoire de Chimie Physique et Rayonnement
UMR E4 CEA
Université de Franche-Comté
16 route de Gray
25030 Besançon
Email : cdman@univ-fcomte.fr
Tél : 03 81 66 20 04
Fax : 03 81 66 65 22

DE BREVERN Alexandre

Equipe de Bioinformatique Génomique et Moléculaire
(EBGM)
INSERM UMR-S 726, Université Paris Diderot - Paris 7,
Institut National de Transfusion Sanguine (INTS),
6, rue Alexandre Cabanel
75739 Paris
Email : alexandre.debrevern@univ-paris-diderot.fr
Tél : 01 44 49 30 00
Fax : 01 47 34 74 31

DE FRUTOS Marta

LPS bât 510 Université de Paris sud
91405 Orsay
Email : defrutos@lps.u-psud.fr
Tél : 01 69 15 53 80

DECLERCK Nathalie

Centre de Biochimie Structurale
INSERM 554- CNRS 5048
29 rue de Navacelles
34090 Montpellier
Email : nathalie@cbs.cnrs.fr
Tél : 04 67 41 79 11
Fax : 04 67 41 79 13

DELEPIERRE Muriel

Institut Pasteur
Unité de RMN des Biomolécules
28 rue du Docteur Roux
75724 Paris
Email : muriel@pasteur.fr
Tél : 33 14 56 88 87
Fax : 33 14 56 88 92

DELSUC Marc-André

IGBMC Biomolecular NMR group, CNRS UMR 7104
Ecole Supérieure de Biotechnologie de Strasbourg
BP10413
Boulevard Sebastien Brant
67412 Illkirch
Email : ma.delsuc@cbs.cnrs.fr
Tél : 06 09 20 36 36

DEMANGE Pascal

Institut de Pharmacologie et Biologie Structurale
205, route de Narbonne
31077 Toulouse
Email : pascal.demange@ipbs.fr
Tél : 05 61 17 54 19
Fax : 05 61 17 59 94

DI PRIMO Carmelo

INSERM U869/IECB
2, rue Robert Escarpit
33607 Pessac
Email : c.diprimo@iecb.u-bordeaux.fr
Tél : 05 40 00 30 50
Fax : 05 40 00 30 04

DULIN Fabienne

CI-NAPS, UMR 6232 – UCBN – CNRS
Centre CYCERON
Bd Becquerel, BP5229
14074 Caen
Email : dulin@cyceron.fr
Tél : 02 31 47 02 54
Fax : 02 31 47 02 22

DUMAS Philippe

IBMC-CNRS UPR9002
15 rue René Descartes
67084 Strasbourg
Email : p.dumas@ibmc.u-strasbg.fr
Tél : 03 88 41 70 02
Fax : 03 88 60 22 18

DURAND Dominique

IBBMC
Bât 430, Université Paris-Sud
91405 Orsay
Email : dominique.durand@u-psud.fr
Tél : 01 69 15 64 21
Fax : 01 69 85 37 15

EBEL Christine

Institut de Biologie Structurale
UMR5075 CEA-CNRS-UJF
41, rue Jules Horowitz
38027 Grenoble
Email : christine.ebel@ibs.fr
Tél : 04 38 78 95 70
Fax : 04 38 78 54 94

ENNIFAR Éric

UPR 9002 CNRS
Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire
15 rue René Descartes
67084 Strasbourg
Email : e.ennifar@ibmc.u-strasbg.fr
Tél : 03 88 41 70 01
Fax : 03 88 60 22 18

ETCHEBEST Catherine

6 rue Alexandre Cabanel, UMR-S726,INTS
75015 Paris
Email : catherine.etchebest@univ-paris-diderot.fr
Tél : 01 44 49 30 00
Fax : 01 47 34 74 31

FAVARD Cyril

Equipe Mosaic - Institut Fresnel
UMR 6133 CNRS-Universités Aix Marseille
Campus de Saint Jérôme, av. Escadrille Normandie
13397 Marseille
Email : cyril.favard@fresnel.fr
Tél : 04 91 28 80 84
Fax : 04 91 28 80 67

FAY Nicolas

CEA-Saclay, Bât. 532 pièce 24B
DSV/iBiTec-S/SBSM
91191 Gif-sur-Yvette
Email : nicolas.fay@cea.fr
Tél : 01 69 82 31 41

FERACCI Mikaël

31, chemin Joseph Aiguier
13402 Marseille
Email : feracci@ibsm.cnrs-mrs.fr
Tél : 04 91 16 43 79
Fax : 04 91 16 45 78

FERGUSON Matthew

Centre de Biochimie Structurale/CNRS/INSERM
29 rue de Navacelles
34090 Montpellier
Email : matt.ferguson@cbs.cnrs.fr
Tél : 06 59 17 00 11
Fax : 04 67 41 79 13

GALLET François

Laboratoire Matière et Systèmes Complexes
Case 7056 - Batiment Condorcet
Université Paris Diderot
75205 Paris
Email : francois.gallet@univ-paris-diderot.fr
Tél : 01 57 27 62 14
Fax : 01 57 27 62 11

GARNIER Norbert

Centre de Biophysique Moléculaire
Rue Charles Sadron
45071 Orléans
Email : garnier@cnrs-orleans.fr
Tél : 02 38 25 76 68

GENEST Daniel

cbm-cnrs
rue charles sadron
45071 Orléans
Email : genest@cnrs-orleans.fr
Tél : 02 38 25 55 93
Fax : 02 38 63 15 17

GENEST Monique

CBM-CNRS
Rue Charles Sadron
45071 Orléans
Email : m.genest@cnrs-orleans.fr
Tél : 02 38 25 55 68
Fax : 02 38 63 15 17

GERVAIS Virginie

205 Route de Narbonne
31077 Toulouse
Email : virginie.gervais@ipbs.fr
Tél : 05 61 17 54 00
Fax : 05 61 17 59 94

GHOMI Mahmoud

BioMoCeTi, UFR SMBH
Université Paris 13
74, rue Marcel Cachin
93017 Bobigny
Email : ghomi@smbh.univ-paris13.fr
Tél : 01 48 38 89 28
Fax : 01 48 38 73 56

GIUDICI-ORTICONI Marie-Thérèse

BIP-CNRS
31, chemin Joseph Aiguier
13402 Marseille
Email : giudici@ibsm.cnrs-mrs.fr
Tél : 04 91 16 45 50
Fax : 04 91 16 45 78

GOLINELLI-PIMPANEAU Béatrice

Laboratoire d'Enzymologie et de Biochimie Structurales
Bâtiment 34, CNRS, 1 avenue de la Terrasse
91190 Gif-sur-Yvette
Email : beatrice.golinelli@lebs.cnrs-gif.fr
Tél : 01 69 82 42 35
Fax : 01 69 82 31 29

GUIGLIARELLI Bruno

Bioénergétique et Ingénierie des Protéines
BIP UPR 9036 CNRS
31 Chemin Joseph Aiguier
13402 Marseille
Email : guigliar@ibsm.cnrs-mrs.fr
Tél : 04 91 16 45 67
Fax : 04 91 16 45 78

GUIRAL Marianne

BIP CNRS, IBSM
31 chemin J. Aiguier
13402 Marseille
Email : guiral@ibsm.cnrs-mrs.fr
Tél : 04 91 16 44 04
Fax : 04 91 16 45 78

HAMDANE Djemel

Laboratoire d'Enzymologie et Biochimie Structurales
UPR 3082 CNRS - Bât. 34 -
91198 Gif-sur-Yvette
Email : hamdane@lebs.cnrs-gif.fr
Tél : 01 69 82 34 98
Fax : 01 69 82 31 29

HARTMANN Brigitte

Equipe de Bioinformatique Génomique et Moléculaire
INTS
6 rue Alexandre Cabanel
75015 Paris
Email : brigitte@ibpc.fr
Tél : 06 86 56 14 43
Fax :

HAZAN Corinne

IPBS/CNRS UMR 5089
205 route de Narbonne
31077 Toulouse
Email : corinnehazan@gmail.com
Tél : 05 61 17 54 26
Fax : 05 61 17 59 94

HERNANDEZ ILLERA Maria Belén

BioMoCeTi UMR CNRS 7033
Université Paris 13, UFR SMBH
74 rue Marcel Cachin
93017 Bobigny
Email : b.hernandez@smbh.univ-paris13.fr
Tél : 01 48 38 89 27
Fax : 01 48 38 73 56

HUET Alexis

Batiment 430
Université Paris Sud
91405 Orsay
Email : alexis.huet@u-psud.fr
Tél : 01 69 15 48 34
Fax : 01 69 85 37 15

IMBERTY Anne

CERMAV-CNRS
BP 53
601 rue de la chimie
38041 Grenoble
Email : anne.imberty@cermav.cnrs.fr
Tél : 04 76 03 76 36
Fax : 04 76 54 72 03

INFOSSI Pascale

BIP IBSM CNRS
31 chemin J. Aiguier
13402 Marseille
Email : tron@ibsm.cnrs-mrs.fr
Tél : 04 91 16 45 53
Fax : 04 91 16 45 78

JOLIBOIS Franck

Laboratoire de Physique et Chimie des Nano-Objets
INSA/CNRS/UPS (UMR 5215)
135 Avenue de Ranguel
31077 Toulouse
Email : franck.jolibois@univ-tlse3.fr
Tél : 05 61 55 96 64
Fax : 05 61 55 96 97

JOURDAN Muriel

I2BM
301 rue de la Chimie
BP53
38041 Grenoble
Email : muriel.jourdan@ujf-grenoble.fr
Tél : 04 76 51 44 30
Fax : 04 76 51 49 46

JUNGAS Colette

CNRS/UMR 161
IBEB/SBVM/LBC
Bâtiment 156
Centre de Cadarache
13108 Saint-Paul-lez-Durance
Email : colette.jungas@cea.fr
Tél : 04 42 25 39 35
Fax : 04 42 25 47 01

KEITA-PAQUET Françoise

Centre de Biophysique Moléculaire
UPR 4301
Rue Charles-Sadron
45071 Orléans
Email : francoise.paquet@cnrs-orleans.fr
Tél : 02 38 25 76 92
Fax : 02 38 63 15 17

KHAO Jonathan

LISM - IBSM - CNRS , 31 Chemin Joseph Aiguier
13402 Marseille
Email : jkhao@ibsm.cnrs-mrs.fr
Tél : 06 16 73 83 91

KIEFFER Bruno

Biomolecular NMR Laboratory
IGBMC
1, Rue Laurent Fries
67404 Illkirch
Email : kieffer@esbs.u-strasbg.fr
Tél : 03 90 24 47 22
Fax : 03 90 24 47 18

KLAHOLZ Bruno

1, rue Laurent Fries
67404 Illkirch
Email : klaholz@igbmc.u-strasbg.fr
Tél : 03 88 65 57 55
Fax : 03 88 65 32 76

KOCHOYAN Michel

CBS INSERM U554 CNRS UMR5048
29 rue de Navacelles
34090 Montpellier
Email : michel@cbs.cnrs.fr
Tél : 04 67 41 79 05
Fax : 04 67 41 79 13

KRIEGER-LISZKAY Anja

Service de Bioénergétique Biologie structurale et méca-
nismes
iBiTeC-S
CEA Saclay
91191 Gif-sur-Yvette
Email : anja.krieger-lisz kay@cea.fr
Tél : 01 69 08 18 03
Fax : 01 69 08 87 17

LALLEMAND Perrine

UMR5236 - CNRS - UM1/2 - Institut de Biologie
4 Boulevard Henri IV - CS69033
34965 Montpellier
Email : perrine.lallem and@univ-montpl.fr
Tél : 04 67 60 05 95
Fax : 04 67 60 44 20

LANDON Céline

Centre de Biophysique Moléculaire
Rue Charles Sadron
45071 Orléans
Email : landon@cnrs-orleans.fr
Tél : 02 38 25 55 46
Fax : 02 38 63 15 17

LE RUMEUR Elisabeth

UMR CNRS 6026 - Equipe RMN-ILP
Faculté de Médecine, CS 34317
35043 Rennes
Email : elisabeth.lerumeur@univ-rennes1.fr
Tél : 02 23 23 46 27
Fax : 02 23 23 46 06

LEH Hervé

LBPA ENS (Cachan)
61, avenue du Président Wilson
94235 Cachan
Email : leh@lbpa.ens-cachan.fr
Tél : 06 62 13 00 56
Fax : 01 47 40 76 84

LETELLIER Lucienne

IBBMC, UMR 8619
Université Paris Sud
Centre d'Orsay, Bat 430
91405 Orsay
Email : lucienne.letellier@u-psud.fr
Tél : 01 69 15 64 29
Fax : 01 69 85 37 15

LIONNE Corinne

UMR 5236, CNRS/Universités Montpellier I & II
Institut de Biologie
4, bd Henri IV (CS 69033)
34965 Montpellier
Email : corinne.lionne@univ-montpl.fr
Tél : 04 67 60 05 95
Fax : 04 67 60 44 20

MAECHLING Clarisse

74, route du Rhin
BP 60024
67401 Illkirch
Email : clarisse.maechling@pharma.u-strasbg.fr
Tél : 03 90 24 42 22
Fax : 03 90 24 43 10

MANGENOT Stéphanie

Institut Curie-UMR 168
26 Rue d'Ulm
75248 Paris
Email : stephanie.mangenot@curie.fr
Tél : 01 42 34 67 81
Fax : 01 40 51 06 36

MARCHETTI Gino

19, rue de la Menagerie
67100 Strasbourg
Email : marchetti.gino@gmail.com
Tél : 03 90 24 47 30
Fax : 03 90 24 47 18

MARGEAT Emmanuel

Centre de Biochimie Structurale
29 rue de Navacelles
34090 Montpellier
Email : margeat@cbs.cnrs.fr
Tél : 04 67 41 79 06

MARGUET Didier

Centre d'immunologie de Marseille Luminy
Parc Scientifique de Luminy
Case 906
13288 Marseille
Email : marguet@ciml.univ-mrs.fr
Tél : 04 91 26 91 28
Fax : 04 91 26 95 30

MILLOT Claire

équipe Lopez
IPBS-CNRS
205 route de Narbonne
31077 Toulouse
Email : claire.millot@ipbs.fr
Tél : 05 61 17 59 39
Fax : 05 61 17 59 94

MIRON Simona

INSERM U759 - Institut Curie
Centre Universitaire Paris XI
Bâtiment 112
91405 Orsay
Email : simona.miron@curie.u-psud.fr
Tél : 01 69 86 31 59
Fax : 01 69 07 53 27

MORERA Solange

LEBS UPR3082 CNRS
1 av de la terrasse
91198 Gif-sur-Yvette
Email : morera@lebs.cnrs-gif.fr
Tél : 01 69 82 34 70
Fax : 01 69 82 31 29

MULLER Isabelle

Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale
205 route de Narbonne
31077 Toulouse
Email : isabelle.muller@ipbs.fr
Tél : 05 61 17 54 20
Fax : 05 61 17 59 94

NEBCHI El Mansouria

Cité Oumakhlouf
Bat 3B App 8
16000 Alger
Algérie
Email : elmansouria_nebchi@yahoo.fr
Tél : 00213235031
Fax : 00213235095

NOGUES Claude

LBPA ENS (Cachan)
61 Ave. Du Pr. Wilson
94235 Cachan
Email : cnogues@lbpa.ens-cachan.fr
Tél : 06 89 24 40 34
Fax : 01 47 40 76 84

NOLLMANN Marcelo

29 Rue de Navacelles
Centre de Biochimie Structurale
CNRS UMR5048, INSERM U554
34090 Montpellier
Email : marcno@gmail.com
Tél : 04 67 41 79 12
Fax : 04 67 41 79 13

NOMINE Yves

Ecole Supérieure de Biotechnologie de Strasbourg
Boulevard Sébastien Brandt
67400 Illkirch
Email : yves.nomine@esbs.u-strasbg.fr
Tél : 03 90 24 47 25
Fax : 03 90 24 47 18

OLLIVER Anne

LBPA ENS (Cachan)
61 Ave. Du Pr. Wilson
94235 Cachan
Email : anneolliver@hotmail.com
Tél : 01 47 40 77 27
Fax : 01 47 40 76 84

PATE Franck

INRA UMR SPO
2 place Pierre Viala
Bat 28
34000 Montpellier
Email : pate@supagro.inra.fr
Tél : 04 99 61 21 10
Fax : 04 99 61 28 57

PATERNOSTRE Maité

URA 2096
iBiTec-S/SB²SM
Bat. 532, DEA-SAclay
91191 Gif-sur-Yvette
Email : maite.paternostre@cea.fr
Tél : 01 69 08 67 49
Fax : 01 69 08 43 89

PERRIN Lionel

Laboratoire de Physique et Chimie des Nano-Objets
UMR 5215, INSA/UPS/CNRS
135 Avenue de Rangueil
31077 Toulouse
Email : lionel.perrin@insa-toulouse.fr
Tél : 05 61 55 96 64
Fax : 05 61 55 96 97

PEYRUSSON Frederic

Cisbio international
Etablissement de Marcoule
R & D / HTRF
BP 84175
30204 Bagnols-sur-Cèze
Email : fpeyrusson@cisbio.com
Tél : 04 66 79 66 47
Fax : 04 66 79 19 47

PIMENTEL Cyril

Laboratoire IMR - IBSM CNRS
31 chemin Joseph Aiguier
13402 Marseille
Email : cpimentel@ibsm.cnrs-mrs.fr
Tél : 04 91 16 44 53
Fax : 04 91 16 45 40

PONCHON Luc

Faculté de Pharmacie-UMR8015
4 avenue de l'observatoire
75270 Paris
Email : luc.ponchon@univ-paris5.fr
Tél : 01 53 73 15 68
Fax : 01 53 73 99 25

PRONGIDI-FIX Lydia

15 rue René Descartes
67084 Strasbourg
Email : lydia.prongidi@ulp.u-strasbg.fr
Tél : 03 88 41 70 42

QUINTERNET Marc

71 rue du Faubourg des trois maisons
54000 Nancy
Email : marc.quinternet@gmail.com
Tél : 06 83 43 65 51
Fax : 03 83 37 99 77

RADU Laura

Institut Curie - INSERM U759
Centre Universitaire Paris-Sud
Bâtiments 110-112
91405 Orsay
Email : laura.radu@curie.u-psud.fr
Tél : 01 69 86 31 68
Fax : 01 69 07 53 27

RAFFY Quentin

Institut Rayonnement Matière de Saclay
Laboratoire Claude Fréjacque, CNRS URA 331
Laboratoire de Radiolyse.
CEA de Saclay
91191 Gif-sur-Yvette
Email : quentin.raffy@cea.fr
Tél : 01 69 08 53 56

RAMOS Pascal

205 route de narbonne
31077 Toulouse
Email : ramos@ipbs.fr
Tél : 05 61 17 54 05
Fax : 05 61 17 59 94

RASPAUD Éric

LPS
Bâtiment 510
Université Paris-Sud Centre Orsay
91405 Orsay
Email : raspaud@lps.u-psud.fr
Tél : 01 69 15 53 53

RECEVEUR-BRÉCHOT Véronique

AFMB - CNRS
Université Aix-Marseille I & II
163, avenue de Luminy
Case 932
13288 Marseille
Email : veronique.brechot@afmb.univ-mrs.fr
Tél : 04 91 82 55 88
Fax : 04 91 26 67 20

RECOUVREUX Pierre

UMR 168 équipe Viovy
11 rue Pierre et Marie Curie
75005 Paris
Email : pierre.recouvreux@curie.fr
Tél : 01 56 24 67 68
Fax : 01 40 51 06 36

RENOUARD Madalena

laboratoire de physique des solides
bat 510, université Paris Sud
91405 Orsay
Email : renouard@lps.u-psud.fr
Tél : 01 69 15 53 53

RENVEZ Guillaume

LAAS-CNRS
7 avenue du colonel roche
31077 Toulouse
Email : grenvez@laas.fr
Tél : 05 61 33 62 28

RÉAT Valérie

Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale
205, route de Narbonne
31077 Toulouse
Email : valerie.reat@ipbs.fr
Tél : 05 61 17 54 18

RIMSKY Sylvie

LBPA ENS (Cachan)
61 Ave. Du Pr. Wilson
94235 Cachan
Email : rimsky@lbpa.ens-cachan.fr
Tél : 01 47 40 76 76
Fax : 01 47 40 76 84

ROPARS Virginie

Centre de Biochimie Structurale
29, rue de Navacelles
34090 Montpellier
Email : ropars@cbs.cnrs.fr
Tél : 04 67 41 77 04
Fax : 04 67 41 79 13

ROUGIER Léa

Laboratoire RMN et Interaction Protéine-Membrane
Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale -
UMR 5
205 route de Narbonne
31077 Toulouse
Email : rougier@ipbs.fr
Tél : 05 61 17 54 26
Fax : 05 61 17 54 94

ROUMESTAND Christian

Centre de Biochimie Structurale
UMR UM1 / 5048 CNRS / 554 INSERM
29 rue de Navacelles
34090 Montpellier
Email : christian.roumestand@cbs.cnrs.fr
Tél : 04 67 41 77 04
Fax : 04 67 41 79 13

ROYER Catherine

CBS
29 rue de Navacelles
34090 Montpellier
Email : catherine.royer@cbs.cnrs.fr
Tél : 04 67 41 79 02
Fax : 04 67 41 79 13

SAGGIORO Chiara

LBPA ENS (Cachan)
61, avenue du Président Wilson
94235 Cachan
Email : csaggior@lbpa.ens-cachan.fr
Tél : 01 47 40 77 27
Fax : 01 47 40 76 84

SALOMÉ Laurence

IPBS-CNRS
205, route de Narbonne
31077 Toulouse
Email : laurence.salome@ipbs.fr
Tél : 05 61 17 59 39
Fax : 05 61 17 59 94

SAUREL Olivier

IPBS, CNRS
205 route de Narbonne
31077 Toulouse
Email : saurel@ipbs.fr
Tél : 05 61 17 54 09
Fax : 05 61 17 59 94

SAVATIER Julien

Centre de Biochimie Structurale
29, rue de Navacelles
34090 Montpellier
Email : julien.savatier@cbs.cnrs.fr
Tél : 04 67 41 77 21
Fax : 04 67 41 79 13

SCHOEHN Guy

20, rue maeder
38170 Seyssinet-pariset
Email : schoehn@embl.fr
Tél : 04 76 62 03 59

SCLAVI Bianca

LBPA, UMR8113, ENS Cachan
61 Avenue du Président Wilson
94235 Cachan
Email : sclavi@lbpa.ens-cachan.fr
Tél : 01 47 40 76 77

SOUNIER Rémy

19 chemin de la ville
38240 Meylan
Email : remysounier@hotmail.com
Tél : 04 76 75 13 12

STRICK Terence

Institut Jacques Monod
2 Place Jussieu
75251 Paris
Email : strick@ijm.jussieu.fr
Tél : 01 44 27 81 75
Fax : 01 44 27 57 16

STURGIS James

LISM/IBSM
31 Chemin Joseph Aiguier
13402 Marseille
Email : sturgis@ibsm.cnrs-mrs.fr
Tél : 04 91 16 44 85
Fax : 04 91 71 21 24

TALMONT Franck

IPBS-CNRS, 25 route de Narbonne
31077 Toulouse
Email : franck.talmont@ipbs.fr
Tél : 05 61 17 54 22
Fax : 05 61 17 59 94

TEISSIÉ Justin

IPBS - CNRS
205, route de Narbonne
31077 Toulouse
Email : justin.teissie@ipbs.fr
Tél : 05 61 17 58 12
Fax : 05 61 17 59 94

THEILLET Francois-Xavier

Unité de RMN des Biomolécules
Institut Pasteur
25 rue du Dr Roux
75015 Paris
Email : ftheille@pasteur.fr
Tél : 01 45 68 88 72
Fax : 01 45 68 89 29

THERY Manuel

17 rue des martyrs
38054 Grenoble
Email : manuel.thery@cea.fr
Tél : 04 38 78 31 41
Fax : 04 38 78 59 17

UNIPAN Laura

INSERM U759
Institut Curie - Section de Recherche
Centre Universitaire Paris-Sud
Bâtiment 110
91405 Orsay
Email : laura.unipan@curie.u-psud.fr
Tél : 01 69 86 31 73

VACHETTE Patrice

IBBMC - UMR8619 CNRS
Centre Universitaire Paris-sud
Bâtiment 430
91405 Orsay
Email : patrice.vachette@u-psud.fr
Tél : 01 69 15 71 32
Fax : 01 69 85 37 15

VIANAY Benoît

Institut Neel, CNRS/UJF - Département MCBT
25 rue des Martyrs
BP 166
38042 Grenoble
Email : benoit.vianay@grenoble.cnrs.fr
Tél : 04 76 88 74 73
Fax : 04 56 38 70 87

VICTOR Jean-Marc

LPTMC
Université Pierre et Marie Curie, boîte 121
4 place Jussieu
75252 Paris
Email : victor@lptmc.jussieu.fr
Tél : 06 81 46 98 23
Fax : 01 44 27 51 00

WIEN Frank

L'Orme des Merisiers
91192 St. Aubin
Email : frank.wien@synchrotron-soleil.fr
Tél : 01 69 35 96 65
Fax : 01 69 35 96 45

ZERRAD Louiza

CINaM-CNRS UPR 3118
Campus de Luminy Case 913
13288 Marseille
Email : zerrad@cinam.univ-mrs.fr
Tél : 06 26 10 25 19
Fax : 04 91 41 89 16

Table des matières

Éditorial	1
Programme	3
Nouvelles méthodes, nouvelles approches en biophysique des acides nucléiques - 1	11
La SPR pour analyser les interactions protéines-ARN et ARN-ARN : promesses, réalité et limites <i>C. Di Primo, E. Dausse, J.-J. Toulmé, S. Fribourg et I. Lebars</i>	11
Mécanismes moléculaires de la transcription : apport de la fluorescence de molécules uniques <i>E. Margeat</i>	11
Effet des contre-ions monovalents à concentration physiologique sur la structure et la dynamique des acides nucléiques <i>J. Abi Ghanem, B. Heddi et B. Hartmann</i>	12
Les interactions ADN-protéine élucidées par RMN : Exemple de la protéine structurale MC1 d' <i>Archaea</i> <i>F. Paquet, F. Culard, U. Asseline et G. Lancelot</i>	12
Nouvelles méthodes, nouvelles approches en biophysique des acides nucléiques - 2	15
Nouvelle approche en production des ARN et ses applications à la biologie structurale <i>L. Ponchon et F. Dardel</i>	15
Études quantitatives des interactions ADN-protéines pour une biologie de systèmes <i>A. Olliver, C. Saggiaro et B. Sclavi</i>	15
Aminoglycoside binding to HIV-1 RNA dimerization initiation site: high-resolution structures, thermodynamics and effects of the kissing-loop to duplex transition <i>S. Freisz, S. Bernacchi, R. Marquet, C. Maechling, P. Dumas et E. Ennifar</i>	16
Nouvelles méthodes, nouvelles approches en biophysique des acides nucléiques - 3	19
Interplay of mRNA and factors in intermediate states of the initiating protein synthesis machinery <i>B. Klaholz</i>	19
Analyse de la cinétique de repliement du riboswitch à vitamine B1 de <i>E. coli</i> <i>D. Burnouf et P. Dumas</i>	19
Nouvelles méthodes, nouvelles approches en biophysique des acides nucléiques - 4	23
Le nucléosome dans tous ses états : les succès d'une approche fonctionnelle en modélisation des grands assemblages <i>M. Barbi, J. Mozziconacci, H. Wong et J.-M. Victor</i>	23
La Résonance des Plasmons de Surface en imagerie, optimisation de l'interface optique/biologique <i>C. Nogues, H. Leh et M. Buckle</i>	23
Une méthode de cartographie des interactions protéine-protéine, par radiolyse <i>Q. Raffy, G. Mousseau, F. Ochsenbein, R. Thai, J.-C. Cintrat, B. Rousseau, J.-P. Renault et S. Pin</i>	24
Nouvelles approches RMN en biologie	27
Atom-resolved investigation of protein folding and unfolding by multidimensional NMR spectroscopy <i>B. Brutscher</i>	27
Étude structurale d'assemblages macromoléculaires de grande taille par résonance magnétique nucléaire <i>R. Sounier, I. Ayala, P. Gans et J. Boisbouvier</i>	27

TCL1 oncogenic proteins : more than just co-activators for Akt <i>V. Ropars, D. Auguin, M. Noguchi, M.-H. Stern, S. Arold et C. Roumestand</i>	28
Conception de ligands de haute affinité de l'ADN polymérase beta par criblage virtuel et RMN selon une approche par fragment <i>C. Hazan, F. Boudsocq, V. Gervais, O. Saurel, C. Cazaux, J. Czaplicki et A. Milon</i>	28
Structure et dynamique des protéines membranaires	31
Membrane proteins in situ and in crystals <i>J. Sturgis</i>	31
Influence des amphiphiles sur les interactions et la cristallisation du complexe photosynthétique RC-LH1 de <i>Rhodobacter Blasticus</i> <i>F. Bonneté, P. Pereira et C. Jungas</i>	31
High-resolution AFM in biological research and as a medical nano-imaging tool <i>S. Mangenot, N. Buzhynskyy et S. Scheuring</i>	32
Propriétés structurales et fonctionnelles des complexes bactériorhodopsine/Amphipols en solution <i>Y. Gohon, T. Dahmane, R. Ruigrock, P. Schuck, D. Charvolin, F. Rappaport, P. Timmins, D. Engelman, C. Tribet, J.-L. Popot et C. Ebel</i>	32
Structure et dynamique des protéines solubles	35
Structure, dynamique et inhibition des GTPases Arf et de leurs GEFs <i>J. Cherfils, J.-C. Zeeh, S. Flisiak, B. Guibert, M. Zeghouf, V. Buosi, A. Thureau, C. van Heijenoort et E. Guittet</i>	35
Suivre les transitions structurales dans les protéines désordonnées: approche pas marquage paramagnétique et spectroscopie RPE <i>V. Belle, S. Rouger, S. Costanzo, J. Stancar, S. Longhi, A. Fournel et B. Guigliarelli</i>	35
Étude de la conformation de la PBP1b de <i>S. pneumoniae</i> par diffusion des rayons-X en solution <i>P. Machebœuf, A. Dessen, M. Piuzzi, F. Bontems, J. Pérez et P. Vachette</i>	36
La phosphoglycérate kinase: une enzyme du métabolisme de pro-drogues antivirales spécifique et ambidextre <i>P. Lallemand, L. Chaloin, S. Arold, C. Gondeau, B. Roy, C. Périgaud, T. Barman et C. Lionne</i>	36
Biophysique cellulaire	39
Critical role of a dynamic nanodomain organization at the plasma membrane for efficient cell signaling <i>F. Conchonaud, A. Sergé, Y. Hamon, X.-J. Guo, N. Bertaux, H. Rigneault, H.-T. He et D. Marguet</i>	39
Mécanosensibilité de cellules adhérentes <i>A. Asnacios, M. Balland, N. Desprat, M. Ghibaud, A. Guiroy, S. Hénon, D. Icard-Arcizet, B. Ladoux, D. Mitrossilis, A. Saez et F. Gallet</i>	39
FCS diffusion laws in two-phase, two-component lipid bilayers <i>C. Favard, J. Ehrig, J. Wenger, P. F. Lenne et H. Rigneault</i>	40
Comparaison entre le Modèle de Potts Cellulaire et la morphologie de cellules adhérentes sur supports micro-structurés <i>B. Vianay, J. Käfer, E. Planus, M. Block, F. Graner et H. Guillou</i>	40
Bioénergétique	43
Singlet oxygen production in photosystem II and its role in signalling <i>A. Krieger-Liszkay, B. Fischer et E. Hideg</i>	43
Imagerie de fluorescence appliquée à l'étude <i>in vivo</i> de l'activité photosynthétique <i>J. Alric, X. Johnson, G. Vandystadt, D. Beal, R. Dubois et P. Roussel</i>	43
Métabolisme énergétique d'une bactérie hyperthermophile : Organisation en supercomplexes des voies respiratoires <i>M. Guiral, P. Infossi, L. Prunetti, M.-C. Giuliani et M.-T. Giudici-Ortoni</i>	44
Assemblages biomoléculaires	47
Structure tridimensionnelle des adénovirus <i>G. Schoehn, P. Fender, E. Kremer, C. Fabry, S. Cusack et R. Ruigrok</i>	47

Nanomanipulation de fibres individuelles de chromatine par pinces magnétiques <i>A. Bancaud, G. Wagner, N. Conde e Silva, P. Recouvreux, C. Lavelle, J. Mozziconacci, H. Wong, M. Barbi, E. Le Cam, J.-M. Victor et J.-L. Viovy</i>	47
Supported biomimetic membrane designed for the investigation of a bacterial toxin translocation <i>C. Rossi, C. Lazzarelli, D. Ladant et J. Chopineau</i>	48
Assemblage des capsides du bactériophage T5 <i>A. Huet, J. Conway, Z. Haj Slimane, P. Decottignies, L. Letellier et P. Boulanger</i>	48
G.G.M.M. – Dynamique et modélisation - 1	51
Interactions protéine-glucides - structure, thermodynamique et modélisation <i>A. Imberty</i>	51
Nouveaux outils pour le calcul objectif de structures RMN et pour une annotation fonctionnelle correcte des protéines : le cas de la coordination du Zinc <i>A. Bernard, B. Bardiaux, M. Sattler et M. Nilges</i>	51
“Restrained” molecular dynamics simulations: a helpful tool in docking protocols <i>S. Bourg, D. Genest, N. Garnier, M. Genest, C. Marot et L. Morin-Allory</i>	52
Modélisation à l’échelle atomique de la flexibilité biomoléculaire par la méthode des Modes Statiques <i>M. Brut, G. Renvez, A. Estève, M. Djafari Rouhani et G. Landa</i>	52
G.G.M.M. – Dynamique et modélisation - 2	55
Elastine : structure/fonction/dynamique <i>N. Belloy, N. Floquet, S. Baud, P. Derreumaux, L. Duca, L. Debelle, L. Martiny et M. Dauchez</i>	55
Insights into dynamic character of <i>Burkholderia cepacia</i> lipase by molecular modelling and robotic-based path planning approaches <i>S. Barbe, V. Lafaquière, D. Guieysse, J. Cortés, P. Monsan, T. Siméon, M. Remaud-Siméon et I. André</i>	55
Structural dynamics of RXR ligand-binding domain: a MD study <i>G. Marchetti et A. Dejaegere</i>	56
A combination of rigid and flexible docking for elucidating complexes involving DARC interceptor, a multi-specific seven-transmembrane helices receptor <i>L. Autin, A. de Brevern et C. Etchebest</i>	56
Communications par affiches	59
Nouvelles méthodes, nouvelles approches en biophysique des acides nucléiques	61
Effet des contre-ions monovalents à concentration physiologique sur la structure et la dynamique des acides nucléiques <i>J. Abi Ghanem, B. Heddi et B. Hartmann</i>	61
Analyse de la cinétique de repliement du riboswitch à vitamine B1 de <i>E. coli</i> <i>D. Burnouf et P. Dumas</i>	61
Aminoglycoside binding to HIV-1 RNA dimerization initiation site: high-resolution structures, thermodynamics and effects of the kissing-loop to duplex transition <i>S. Freisz, S. Bernacchi, R. Marquet, C. Maechling, P. Dumas et E. Ennifar</i>	62
Analyse par resonance de plasmons de surface de l’interaction ER/ERE: application au dosage des perturbateurs endocriniens <i>D. Habauzit, S. Bayle, M. Pugniere, J. Armengaud, B. Roig et J. Chopineau</i>	62
Les interactions ADN-protéine élucidées par RMN : Exemple de la protéine structurale MC1 d’ <i>Archaea</i> <i>F. Paquet, F. Culard, U. Asseline et G. Lancelot</i>	63
Purification de complexes d’initiation de la traduction de l’ARNm de l’histone H4 murine <i>L. Prongidi-Fix, B. Klaholz, F. Martin et G. Eriani</i>	63
Une méthode de cartographie des interactions protéine-protéine, par radiolyse <i>Q. Raffy, G. Mousseau, F. Ochsenbein, R. Thai, J.-C. Cintrat, B. Rousseau, J.-P. Renault et S. Pin</i>	64
Nouvelles approches RMN en biologie	67
Conception de ligands de haute affinité de l’ADN polymérase beta par criblage virtuel et RMN selon une approche par fragment <i>C. Hazan, F. Boudsocq, V. Gervais, O. Saurel, C. Cazaux, J. Czapllicki et A. Milon</i>	67

TCL1 oncogenic proteins : more than just co-activators for Akt <i>V. Ropars, D. Auguin, M. Noguchi, M.-H. Stern, S. Arold et C. Roumestand</i>	67
Étude structurale d'assemblages macromoléculaires de grande taille par résonance magnétique nucléaire <i>R. Sounier, I. Ayala, P. Gans et J. Boisbouvier</i>	68
Structure et dynamique des protéines membranaires	71
Homogeneous Time Resolved Fluorescence technique for study and imaging of membrane receptors oligomerization <i>H. Bazin, T. Durroux, F. Peyrusson, E. Lopez-Crapez, C. Larbouret, A. Pèlegri, M. Ychou et G. Mathis</i>	71
Influence des amphiphiles sur les interactions et la cristallisation du complexe photosynthétique RC-LHI de <i>Rhodobacter Blasticus</i> <i>F. Bonneté, P. Preira et C. Jungas</i>	71
Propriétés structurales et fonctionnelles des complexes bactériorhodopsine/Amphipols en solution <i>Y. Gohon, T. Dahmane, R. Ruigrock, P. Schuck, D. Charvolin, F. Rappaport, P. Timmins, D. Engelman, C. Tribet, J.-L. Popot et C. Ebel</i>	72
Étude de la Structuration et du comportement d'un complexe modèle peptide membranaire - détergents par simulations de dynamique moléculaire <i>J. Khao, J.-P. Duneau et J. Sturgis</i>	72
High-resolution AFM in biological research and as a medical nano-imaging tool <i>S. Mangenot, N. Buzhynskyy et S. Scheuring</i>	73
The full-length mu-opioid receptor: a conformational study by circular dichroism in trifluoroethanol and membrane-mimetic environments <i>I. Muller, V. Sarraména, M. Renault, V. Lafaquière, S. Sebai, A. Milon et F. Talmont</i>	73
The full-length mu-opioid receptor: a conformational study by circular dichroism in trifluoroethanol and membrane-mimetic environments <i>I. Muller, V. Sarraména, M. Renault, V. Lafaquière, S. Sebai, A. Milon et F. Talmont</i>	74
Analysis of transmembrane helices in protein structures <i>J. Pylouster, A. Bornot, C. Etchebest et A. de Brevern</i>	74
Orientation et dynamique de protéines transmembranaires - Étude préliminaire d'un peptide modèle : WALP 23 <i>L. Rougier, V. Réat, F. Jolibois, A. Milon, O. Saurel et J. Czaplicki</i>	75
Structure et dynamique des protéines solubles	79
Suivre les transitions structurales dans les protéines désordonnées: approche pas marquage paramagnétique et spectroscopie RPE <i>V. Belle, S. Rouger, S. Costanzo, J. Stancar, S. Longhi, A. Fournel et B. Guigliarelli</i>	79
Ligand recognition by the energy-sensor domain of the catabolite repressor protein CcpN <i>D. Chaix, K. Leguilhem, D. Le Coq, S. Zorrilla, S. Aymerich, C. Royer, S. Arold et N. Declerck</i>	79
Étude du mécanisme de l'urate oxydase : mise en évidence de l'oxygène et de différents intermédiaires réactionnels <i>N. Colloc'h, L. Gabison, G. Monard, G. Marassio, M. Chiadmi, M. El Hajji, B. Castro, J. H. Abraini et T. Prangé</i>	80
Calmodulin Interactors : tools for studying calcium signal <i>R. Dagher, D. Bonnet, P. Villa, M. Hibert, M.-C. Kilhoffer, C. Pigault et J. Haiech</i>	80
Mécanismes de réduction des ponts disulfure dans le lysozyme révélés par spectroscopie Raman et calcul moléculaire <i>C. David, S. Foley et M. Enescu</i>	81
Étude structurale du complexe de méthylation en m7G des ARN de transfert dans la levure par cristallographie et diffusion des rayons-X en solution <i>D. Durand, N. Leulliot, M. Chaillet, N. Ulryck, K. Blondeau et H. van Tilbeurgh</i>	81
Dénaturation thermique d'un système oligomérique « hors équilibre » : la C-phycoyanine <i>G. Gibrat, C. Paris, M. Desmadril et S. Combet</i>	82
Structural insights into the interaction of jasmonic acid with lipid transfer protein: involvement in systemic acquired resistance <i>J. Gruszczyk, B. Legrand, V. Piller, M. Ponchet, C. Damblon, F. Vovelle et C. Landon</i>	82
Étude biophysique de l'interaction entre l'alpha hémoglobine et son chaperon moléculaire, l'AHSP <i>D. Hamdane, V. Baudin-Creuz, C. Vasseur, G. Hui-Bon-Hoa et M. Marden</i>	83
La phosphoglycérate kinase: une enzyme du métabolisme de pro-drogues antivirales spécifique et ambidextre <i>P. Lallemand, L. Chaloin, S. Arold, C. Gondeau, B. Roy, C. Périgaud, T. Barman et C. Lionne</i>	83

Étude de la conformation de la PBP1b de <i>S. pneumoniae</i> par diffusion des rayons-X en solution <i>P. Machebœuf, A. Dessen, M. Piuzzi, F. Bontems, J. Pérez et P. Vachette</i>	84
Effets de l'oxydation radio-induite sur le répresseur de l'opéron lactose. Étude par simulation de dynamique moléculaire <i>S. Mazier, D. Genest et M. Spothem-Maurizot</i>	84
Mécanismes d'inactivation de prodrogues antivirales ou anticancéreuses : cas de la nucléotidase cytosolique II et élaboration de potentiels inhibiteurs <i>M. Meurillon, P. Lallemand, S. Peyrottes, C. Périgaud, C. Dumontet, C. Lionne et L. Chaloin</i>	85
Caractérisation moléculaire et structurale de l'interaction entre la centrine humaine 2 et la protéine XPC impliquées dans le mécanisme de réparation par excision des nucléotides, NER <i>S. Miron, D. Duchambon, Y. Blouquit, J.-B. Charbonnier, M. H. Le Du, D. Durand et C. T. Craescu</i>	85
Étude de l'influence de tanins sur la structuration d'une protéine salivaire riche en proline par dichroïsme circulaire <i>F. Pate, F. Canon, T. Marlin, H. Boze, P. Sarni-Manchado, M.-A. Delsuc et V. Cheyrier</i>	86
Étude par RMN des domaines N-terminaux des protéines PilB et DsbD issues de <i>Neisseria meningitidis</i> <i>M. Quinternet, P. Tsan, L. Selme, C. Beauvils, M.-C. Averlant-Petit, S. Boschi-Muller, G. Branlant et M.-T. Cung</i>	86
Le mode d'interaction de la Centrine de <i>Scherffelia dubia</i> dépend du Ca^{2+} et de la nature de la cible <i>L. Radu, L. Assairi, Y. Blouquit, I. Durussel, J. A. Cox, J.-B. Charbonnier et C. T. Craescu</i>	87
Analyse structurale en solution d'HBHA : une protéine intrinsèquement désordonnée impliquée dans la dissémination extra-pulmonaire des bacilles de la tuberculose <i>V. Receveur-Brechot, P. Lebrun, F. Dewitte, P. Rucktooa, F. Menozzi, D. Raze, C. Loch, V. Villeret et C. Bompard</i>	87
Couplage thermodynamique entre la liaison du Ca^{2+} et des cibles par la centrine humaine 2 <i>L. Unipan, Y. Blouquit et C. T. Craescu</i>	88
Effets d'une mutation responsable du cancer de la prostate sur le domaine DBD du récepteur nucléaire des hormones androgènes <i>Y.-H. Wang, A. Monge, J. Céraline, R. A. Atkinson et B. Kieffer</i>	88
Biophysique cellulaire	91
FCS diffusion laws in two-phase, two-component lipid bilayers <i>C. Favard, J. Ehrig, J. Wenger, P. F. Lenne et H. Rigneault</i>	91
Fluorescence correlation spectroscopy in live <i>Bacillus subtilis</i> cells <i>M. Ferguson, N. Declerck et C. Royer</i>	91
Étude des interactions entre récepteurs nucléaires et corégulateurs dans les cellules vivantes par spectroscopie bi-photonique de corrélation croisée de fluorescence <i>J. Savatier, S. Jalaguier, E. Margeat, V. Cavallès et C. Royer</i>	92
Comparaison entre le Modèle de Potts Cellulaire et la morphologie de cellules adhérentes sur supports microstructurés <i>B. Vianay, J. Käfer, E. Planus, M. Block, F. Graner et H. Guillou</i>	92
Bioénergétique	95
Imagerie de fluorescence appliquée à l'étude <i>in vivo</i> de l'activité photosynthétique <i>J. Alric, X. Johnson, G. Vandystadt, D. Beal, R. Dubois et P. Roussel</i>	95
Métabolisme énergétique d'une bactérie hyperthermophile : Organisation en supercomplexes des voies respiratoires <i>M. Guiral, P. Infossi, L. Prunetti, M.-C. Giuliani et M.-T. Giudici-Ortoni</i>	95
Un édifice supramoléculaire membranaire impliqué dans la respiration H_2/S chez <i>Aquifex aeolicus</i> : mise en évidence, caractérisation et rôle fonctionnel <i>P. Infossi, M. Guiral, M.-C. Giuliani et M.-T. Giudici-Ortoni</i>	96
Assemblages biomoléculaires	99
Influence de la longueur des chaînes acyles des phospholipides et des taux de stérols sur les propriétés pharmacologiques des récepteurs mu et delta aux opioïdes <i>A. Andre, C. Millot, A. Sauliere, C. Lebrun, G. Gaibelet et A. Lopez</i>	99
Nanomanipulation de fibres individuelles de chromatine par pinces magnétiques <i>A. Bancaud, G. Wagner, N. Conde e Silva, P. Recouvreux, C. Lavelle, J. Mozziconacci, H. Wong, M. Barbi, E. Le Cam, J.-M. Victor et J.-L. Viovy</i>	99

HIV-1 Vif regulates the translation of the antiviral factor APOBEC3G by binding to its messenger RNA <i>S. Bernacchi, G. Mercenne, M. Staedelin, D. Richer, R. Marquet et J.-C. Paillart</i>	100
Régulation de l'éjection du génome du bactériophage T5 <i>P. Boulanger, L. Letellier, M. de Frutos, E. Raspaud, F. Confalonieri et Y. Zivanovic</i>	100
Études structurales par RMN du complexe formé par le domaine THAP de THAP1 et sa cible ADN THABS <i>S. Campagne, V. Gervais et A. Milon</i>	101
Cinétique et énergétique de l'éjection de l'ADN des bactériophages <i>M. de Frutos, E. Raspaud, P. Boulanger, L. Letellier, C. Sao-José et P. Tavares</i>	101
Assemblage des capsides du bactériophage T5 <i>A. Huet, J. Conway, Z. Haj Slimane, P. Decottignies, L. Letellier et P. Boulanger</i>	102
Diffusion and fluctuations in asymmetric stacks of supported bilayers <i>C. Mauroy, N. Destainville, C. Lebrun, M. Manghi, E. Haanappel, S. Mazeres et L. Salomé</i>	102
Purification and Characterization Of The Putative Yeast Complex R2TP <i>S. Moréra, K. Eckert, C. Caillat, P. Meyer, C. Papin, M. Grigoriev, M. Nicaise et C. Sophie</i>	103
The interaction of human papillomavirus oncoprotein E6 with cruciform DNA: a Biacore study <i>Y. Nominé, L. Choulier, D. Altschuh et G. Travé</i>	103
Physicochemical studies on Lanreotide self-association process in water <i>M. Paternostre, F. Artzner, N. Fay, S. Lecomte, E. Pouget, C. Valérie et A. Pandit</i>	104
Supported biomimetic membrane designed for the investigation of a bacterial toxin translocation <i>C. Rossi, C. Lazzarelli, D. Ladant et J. Chopineau</i>	104
Étude structurale de peptides à visée thérapeutique en oncologie <i>A. Tagounits, B. Hernandez, Y.-M. Coïc, C. Carelli, A. Cao, D. Briane et M. Ghomi</i>	105
Interaction et orientation de domaines répétés de la dystrophine en système membranaire modèle <i>V. Vié, S. Legardinier, B. Desbat, A. Renault, J.-F. Hubert et E. Le Rumeur</i>	105
Étude structurale des dendrimères pamam et de leur association avec le polyu par des techniques de diffusion de rayonnements <i>L. Zerrad, A. Kikhney, A. Round, D. Svergun, L. Peng et F. Bonneté</i>	106

G.G.M.M. — Dynamique et modélisation **109**

Influence de la conformation de la tête polaire carbohydrate sur les propriétés structurales et dynamiques des micelles de lauryl dodecyl maltoside : une étude de simulation de dynamique moléculaire <i>S. Abel et M. Marchi</i>	109
A combination of rigid and flexible docking for elucidating complexes involving DARC interceptor, a multi-specific seven-transmembrane helices receptor <i>L. Autin, A. de Brevern et C. Etchebest</i>	109
Influence of the substrates on the hinge bending motion of human 3-phosphoglycerate kinase <i>E. Balog, Z. Palmai, L. Chaloin, P. Lallemand, C. Lionne, J. Fidy et D. Perahia</i>	110
Insights into dynamic character of <i>Burkholderia cepacia</i> lipase by molecular modelling and robotic-based path planning approaches <i>S. Barbe, V. Lafaquière, D. Guieysse, J. Cortés, P. Monsan, T. Siméon, M. Remaud-Siméon et I. André</i>	110
Nouveaux outils pour le calcul objectif de structures RMN et pour une annotation fonctionnelle correcte des protéines : le cas de la coordination du Zinc <i>A. Bernard, B. Bardiaux, M. Sattler et M. Nilges</i>	111
“Restrained” molecular dynamics simulations: a helpful tool in docking protocols <i>S. Bourg, D. Genest, N. Garnier, M. Genest, C. Marot et L. Morin-Allory</i>	111
Modélisation à l'échelle atomique de la flexibilité biomoléculaire par la méthode des Modes Statiques <i>M. Brut, G. Renvez, A. Estève, M. Djafari Rouhani et G. Landa</i>	112
Simulation de dynamique moléculaire de l'urate oxydase en présence de xénon : un aperçu des perturbations entraînées par les gaz anesthésiques <i>F. Dulin, J. Sopkova-de Oliveira Santos, G. Monard, J. H. Abraini et N. Colloc'h</i>	112
Structural dynamics of RXR ligand-binding domain: a MD study <i>G. Marchetti et A. Dejaegere</i>	113
Études structurales du mimétisme d'antigènes polysaccharidiques bactériens par des oligosaccharides et des peptides: le modèle de <i>Shigella flexneri</i> 2a <i>F.-X. Theillet, C. Simenel, A. Phalipon, L. Mulard, B. Vulliez-Lenormand, G. Bentley et M. Delepierre</i>	113

Index des auteurs	117
Liste des participants	123
Table des matières	133