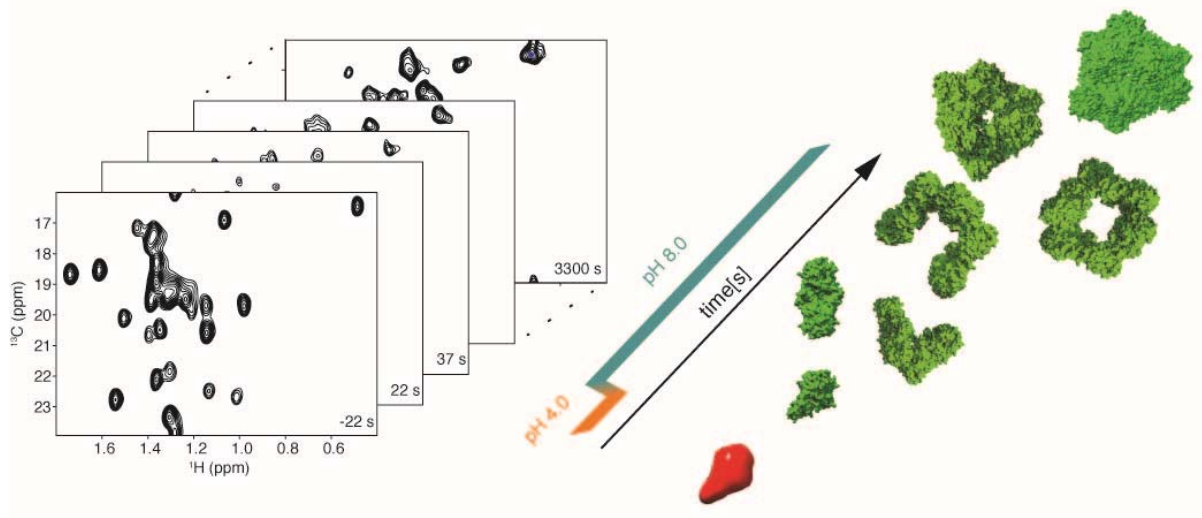


Biologie Structurale Intégrée : Développement de stratégies innovantes pour observer la formation des machineries biologiques.



Dans le cadre du projet ERC [SeeNanoLifeInAction](#), les chercheurs de l'Institut de Biologie Structurale (IBS unité mixte CEA/CNRS/UGA) et leurs collaborateurs, ont pour la première fois pu "filmer" le processus d'autoassemblage d'une machinerie biologique dodécamérique d'un demi mégadalton.

L'autoassemblage des protéines est un processus essentiel par lequel la nature crée des grands assemblages complexes impliqués dans les principales fonctions cellulaires. L'auto-assemblage de ces particules biologiques reflète l'information codée dans la structure tridimensionnelle de la protéine en tant que combinaison d'interactions intermoléculaires. Un processus répétitif d'association protéine-protéine, qui peut impliquer un réarrangement conformationnel des sous-unités de bases, est nécessaire pour la formation des machines fonctionnelles. Le suivi en temps réel des changements conformationnels et des états d'oligomérisation intermédiaires impliqués dans la maturation de ces machines biologiques, est un challenge pour la biologie structurale moderne, en raison de la nature transitoire des intermédiaires impliqués et de leurs faibles abondances.

Les méthodes standard d'études des assemblages de masse moléculaire élevée utilisent en général la mutagenèse pour déstabiliser les interfaces afin de diviser les grands complexes en blocs plus petits et stables, ce qui permet leur étude par des techniques biochimiques et biophysiques traditionnelles. Dans cette étude, les chercheurs de l'IBS ont développé des approches innovantes afin d'observer en temps réel le processus d'oligomérisation d'une aminopeptidase d'un demi-mégadalton sans introduire de perturbations artificielles dans sa séquence primaire. Grâce à l'utilisation des grands équipements de Résonance Magnétique Nucléaire, de Microscopie Electronique et de Spectrométrie de Masse native, appartenant à l'infrastructure d'avenir [FRISBI](#), et l'intégration de ces approches de biologie structurale, ces équipes ont pu suivre au niveau structural l'auto-assemblage des douze sous-unités formant une aminopeptidase essentielle pour le recyclage des protéines dans les Bactéries et des Archés.

Compte tenu de leur grande taille, les machineries biologiques sont en général hors de portée pour les études de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) en solution. Afin de repousser les frontières de la RMN en biologie, les chercheurs de l'IBS ont développé des stratégies de

marquage isotopique spécifique¹ permettant d'étendre l'étude des protéines à des objets de plusieurs centaines de kilodaltons. Des techniques de RMN rapides associées à la spectrométrie de masse native ont permis de caractériser l'état initial de courte durée de vie dans la voie d'auto-assemblage. Une stratégie de microscopie électronique résolue en temps a été mise en place pour identifier la forme des intermédiaires oligomériques plus grands apparaissant progressivement au cours du phénomène d'auto-assemblage. L'intégration de ces données résolues en temps a permis d'extraire les paramètres cinétiques caractérisant la disparition du monomère de base, l'évolution des espèces oligomériques transitoires et l'apparition progressive des assemblages dodécamériques matures de cette grande peptidase. L'association de ces trois techniques structurales complémentaires a permis d'élucider le processus d'auto-assemblage de cette particule d'un demi-mégadalton.

1. Ces technologies ont donné lieu à 3 brevets (co-propriété CEA/CNRS/UGA) qui sont valorisés par la start-up NMR-Bio fondée par les chercheurs grenoblois.

Contacts :

Groupe de [RMN Biomoléculaire](#) – Jérôme Boisbouvier

Groupe [Microscopie Electronique et Méthodes](#) – Guy Schoehn

Equipe [Spectrométrie de Masse native de complexes protéiques](#) – Elisabetta Boeri-Erba