

A la Une

Tara Océans : 40 millions de nouveaux gènes décryptés

Contact : Patrick Wincker

Un numéro spécial de la revue *Science* met en scène les premiers résultats de l'expédition Tara Océans avec 5 publications auxquelles le CEA-IG a participé. 35 000 échantillons ont été collectés et 600 d'entre eux ont été déjà analysés par les équipes du Génomoscope. Ils révèlent, entres autres, 40 millions de gènes microbiens, dont la grande majorité sont nouveaux.

Le séquençage massif des données consciencieusement récoltées au cours des 3 années du voyage de la goélette *Tara* sur les océans du globe a démarré et déjà apporté son lot de surprises. La diversité de la vie planctonique s'avère encore plus foisonnante que prévu. Par exemple, le CEA-IG a analysé un milliard de séquences d'ADN ribosomique provenant de 334 sites. Les chercheurs ont répertorié pas moins de 150 000 types génétiques d'organismes unicellulaires eucaryotes (protistes) alors que seulement 11 000 espèces étaient décrites jusqu'à présent. Aussi, des études de métagénomique, à savoir le séquençage massif de matériel génétique issu de communautés entières de microorganismes, a révélé 40 millions de gènes de virus, de procaryotes et de pico-eucaryotes marins, dont plus de 80 % sont nouveaux. Les scientifiques ont construit la 1^{ère} base de données génomique et morphologique sur les virus marins.

Les travaux parus dans la revue *Science* mettent aussi en lumière l'exploration des interactions entre organismes (parasitisme, symbiose) et la construction d'une base de données pour l'étude de l'impact du changement climatique. Retrouvez les détails de cette aventure hors du commun et de ses premiers résultats dans le dossier de presse ci-dessous.

[Ce résultat a fait l'objet d'un dossier de presse.](#)

[Sommaire de l'édition spéciale de Science.](#)

Alzheimer : l'eau comme diagnostic précoce ?

Contact : Martin Weik

Le mouvement de l'eau dans le cerveau, en particulier à l'intérieur des neurones, pourrait servir de marqueur précoce de la maladie d'Alzheimer. Explications.

La maladie d'Alzheimer se caractérise par une perte progressive du volume neuronal, ainsi que par une accumulation de protéines anormales à l'intérieur (tau) et à l'extérieur des neurones (peptide A β). Ces protéines forment des fibres dites amyloïdes, envahissant l'intérieur et l'extérieur des cellules neuronales et les « étouffant » jusqu'à leur destruction. Ces empreintes de la maladie apparaissent très tôt, mais sont difficilement détectables. Des chercheurs de l'Institut de Biologie Structurale (IBS, Grenoble), en collaboration avec l'Institut Laue Langevin (Grenoble), le centre de recherche de Jülich, le Laboratoire des Matériaux et du Génie Physique (Grenoble) et l'Université de Californie, ont mis en évidence que le mouvement des molécules d'eau pourrait constituer un marqueur indirect de la présence de fibres amyloïdes tau.

Cette hypothèse vient d'observations faites par la diffusion de neutrons, une technique spectroscopique capable de repérer des atomes d'hydrogène et mesurer ainsi l'amplitude du mouvement des molécules d'eau à l'échelle nanométrique. Les chercheurs ont tout d'abord créé artificiellement des fibres *in vitro* par ajout d'héparane sulfate, un polysaccharide complexe dont les groupes sulfates sont connus pour déclencher l'agrégation des protéines tau entre elles. Ayant pour objectif d'observer le mouvement de l'eau, ils ont du « masquer » l'hydrogène de la protéine tau et de l'héparane sulfate en l'échangeant par un de ses isotopes, le deutérium. Pour la protéine, les chercheurs ont utilisé une technologie récemment développée par C.Laguri et H. Lortat-Jacob à l'IBS, qui permet de sulfater chimiquement un polysaccharide produit par fermentation bactérienne en milieu deutéré. « *Nous avons ensuite comparé des expériences de diffusion neutronique sur des protéines tau normales d'une part, et sur des fibres pathologiques d'autre part,* explique Martin Weik, responsable d'équipe à l'IBS. *En outre, nous avons pu discriminer les mouvements de l'eau au voisinage du cœur de la fibre de ceux en périphérie, dans une structure souple appelée « fuzzy coat ».* » Résultats : l'eau s'avère beaucoup plus mobile dans les fibres amyloïdes que sur les protéines tau non agrégées. « *L'accélération concerne 25 % des molécules d'eau,* précise Yann Fichou, premier auteur de la publication. *Et nous avons montré par des calculs de dynamique moléculaire qu'elle a lieu dans le « fuzzy coat » et non au niveau du cœur de la fibre.* »

Selon les chercheurs, l'augmentation de la mobilité des molécules d'eau influencerait sur le développement des fibres amyloïdes par un effet dit de « stabilisation entropique ». Cet effet thermodynamique favoriserait l'agrégation de la protéine tau, aux dépens de l'état normal (non agrégé), *a priori* plus stable. « *Il faudrait maintenant suivre le mouvement de l'eau durant le processus de formation des fibres,* souligne Martin Weik. *Il serait intéressant de savoir si la propension à former ces fibres peut être modulée par la dynamique des molécules d'eau.* »

Ces résultats ouvrent un nouveau champ de connaissances dans la compréhension de la pathologie d'Alzheimer. Cette fluidité accrue révèle en effet la formation de fibres pathogènes et pourrait servir de marqueur précoce de la maladie. Comment ? En se basant sur le savoir-faire d'autres chercheurs de la DSV, qui ont développé un type d'IRM fonctionnel basé sur la diffusion des molécules d'eau. « *Nous avons contacté l'équipe de Denis le Bihan, à NeuroSpin,* indiquent les chercheurs de l'IBS. *Nous allons collaborer. Il s'agit d'une réelle opportunité pour développer un outil diagnostique inédit.* »

[Ce résultat a fait l'objet d'un communiqué de presse.](#)

[Lien vers le résumé de la publication dans les PNAS.](#)

Vieillessement précoce : des chercheurs découvrent et réparent les défauts des cellules malades

Contact : Denis Biard

Des chercheurs sont parvenus à rétablir une activité normale dans des cellules issues de patients atteints d'un syndrome de vieillissement précoce, le syndrome de Cockayne. Ils ont découvert l'implication d'une enzyme dans le dysfonctionnement des mitochondries, qui jouent un rôle clé dans l'apparition des symptômes de vieillissement chez les enfants.

Plusieurs maladies génétiques rares provoquent un vieillissement précoce et accéléré. Aucun traitement n'est disponible à ce jour pour ces pathologies. Une de ces maladies, le syndrome de Cockayne (CS), a une incidence d'environ 2,5 par million de naissances, et est associé à une durée de vie de moins de sept ans pour la forme la plus sévère. Elle est causée par des mutations de deux gènes impliqués dans la réparation des dommages de l'ADN dus aux rayons ultraviolets (UV). Depuis des décennies, on pensait que le défaut de réparation de l'ADN était le responsable majeur du vieillissement précoce dans cette pathologie.

En comparant les cellules de patients atteints de CS et celles d'un autre syndrome apparenté mais pour lequel les patients sont uniquement hypersensibles aux UV, des chercheurs de l'Institut Pasteur, du CNRS, de l'Institut Gustave Roussy et du CEA-IMETI ont découvert que les défauts des cellules CS sont dus à une production excessive d'une protéase (HTRA3) induite par le stress oxydatif des cellules. Dans les cellules CS, HTRA3 dégrade un élément clé de la machinerie responsable de la réplication de l'ADN des mitochondries, les centrales énergétiques de la cellule, perturbant ainsi l'activité mitochondriale.

Jusqu'à présent la neurodégénérescence et le vieillissement étaient en grande partie attribués aux dommages infligés aux cellules par les radicaux libres produits par les mitochondries. Cette nouvelle étude démontre que les radicaux libres activent aussi l'expression d'une protéine HTRA3, dévastatrice pour les mitochondries. Cette attaque au cœur des mitochondries est un élément clé de la dégénérescence des cellules issues de malades atteints de vieillissement précoce.

Grâce à deux nouvelles stratégies thérapeutiques, utilisant un inhibiteur de cette protéase HTRA3 ou un antioxydant à large spectre qui capture les radicaux libres, les scientifiques ont réussi à restaurer un niveau normal de cette protéase. Ainsi, la fonction mitochondriale dans les cellules des patients est restaurée. Cette avancée ouvre la voie à de nouvelles approches thérapeutiques, qui pourront être testées prochainement chez les patients, et apporte de nouveaux outils de diagnostic.

[Ce résultat a fait l'objet d'un communiqué de presse.](#)

[Lien vers le résumé de la publication dans les PNAS.](#)

Comment une séquence d'ADN mobile trouve-t-elle sa cible ?

Contact : Michel Weber

Certaines séquences d'ADN mobiles façonnent les génomes et y sont maintenus au cours des générations. Comment ? Une interaction entre deux protéines, indispensable pour leur intégration dans une zone précise du génome d'une levure, a été identifiée. Un intérêt pour la thérapie génique.

Les éléments transposables sont des séquences d'ADN capables de se déplacer dans les génomes. Ils en représentent une fraction significative et joueraient un rôle important dans leur évolution. En s'intégrant au sein de l'ADN, ces éléments peuvent contribuer à la plasticité du génome et à l'apparition de nouvelles fonctions cellulaires. A l'inverse, ils peuvent également provoquer des mutations mettant en péril la vie des cellules. Leur intégration se fait généralement dans des régions particulières, pauvres en gènes, où elle est moins délétère. Les mécanismes qui permettent cette intégration ciblée sont encore mal compris.

Des chercheurs du laboratoire Pathologie et virologie moléculaire (CNRS/Inserm/Université Paris Diderot), en collaboration avec des chercheurs du CEA-IBITECS et de l'Université du Minnesota, aux Etats-Unis, se sont intéressés au rétrotransposon¹ Ty1 de la levure *Saccharomyces cerevisiae* pour étudier comment est déterminé le site d'intégration. Ty1 s'intègre dans une région, étroite à l'échelle du génome, située en amont de gènes précis, tous transcrits par un complexe enzymatique, l'ARN polymérase III (Pol III). En utilisant Pol III comme un appât, les chercheurs ont découvert qu'une des protéines de ce complexe, appelée AC40, interagit avec la protéine codée par Ty1 qui permet son intégration. La suite des analyses a montré que cette interaction est indispensable pour l'intégration ciblée de l'élément transposable.

Au-delà de l'avancée pour la recherche fondamentale, élucider le mécanisme d'intégration de Ty1 a également un intérêt pour la thérapie génique. Celle-ci utilise des vecteurs dérivant de rétrovirus afin de transférer des gènes au sein des cellules. Comme les rétrovirus, ces vecteurs s'intègrent souvent dans des régions riches en gènes où ils peuvent avoir des effets mutagènes. Les propriétés des éléments transposables comme Ty1 pourraient être exploitées pour limiter les impacts des vecteurs de transfert de gènes en contrôlant leur intégration dans des régions à moindre risque.

[Ce résultat a fait l'objet d'un communiqué de presse.](#)

[Lien vers le résumé de la publication dans Science.](#)

¹Un rétrotransposon est un élément transposable particulier, capable de se répliquer sur un mode copier-coller donc de se multiplier et d'envahir un génome. Cette répllication passe par un intermédiaire ARN. Les rétrotransposons présentent des similarités avec les rétrovirus.

Le génome du chêne séquencé

Contact : Patrick Wincker

Des équipes de recherche de l'Inra et du CEA-IG viennent de séquencer pour la première fois le génome du chêne pédonculé, très largement répandu dans l'hémisphère nord. Ces travaux permettront de mieux comprendre les mécanismes d'adaptation des arbres aux variations environnementales et fourniront des éléments pour anticiper leurs réponses au changement climatique.

Arbre emblématique, le chêne pédonculé (*Quercus robur*) fait partie de la section botanique la plus importante du genre *Quercus* : les chênes blancs, dont on dénombre 200 espèces et qui sont présents à la fois en Europe, en Asie et en Amérique. Grâce à un consortium piloté par l'Inra de Bordeaux-Aquitaine, en partenariat avec le Centre National de Séquençage du CEA (Génoscope), le génome du chêne pédonculé vient d'être séquencé. Trois années de travaux ont permis de décrypter l'ensemble de l'information génétique portée par ses 12 paires de chromosomes. Le consortium a caractérisé 50 000 gènes et estimé que la moitié des 1,5 milliard de paires de base du génome était constituée d'éléments répétés. C'est la première réalisation pour une espèce du genre *Quercus*, qui occupe une place importante au plan économique, écologique, mais aussi culturel dans de nombreux pays.

Des résultats partagés

Conformément aux accords internationaux des Bermudes [1998] et de Fort Lauderdale [2003], ainsi qu'à la déclaration de Toronto [2009], les données du séquençage du génome du chêne sont mises librement à disposition de la communauté scientifique (www.oakgenome.fr), avant la publication de l'article scientifique finalisé par le consortium prévue dans les prochains mois.

[Ce résultat a fait l'objet d'un communiqué de presse.](#)

[Lien vers le résumé de la publication dans Molecular ecology resources.](#)

Un leurre pour tromper l'adversaire : les ruses moléculaires de l'Arabette

Contact : Yohann Couté

Le règne animal regorge de stratégies permettant aux prédateurs de capturer leurs proies ou, inversement, à ces dernières de leur échapper. De telles ruses sont également déployées à l'échelle moléculaire, notamment chez l'une des bactéries phytopathogènes les plus dévastatrices de la planète qui court-circuite les défenses des cellules végétales en empêchant le déclenchement d'un « signal d'alarme » immunitaire. Plus étonnant encore, des cellules végétales ont développé un récepteur intégrant un leurre destiné à prendre l'envahisseur à son propre piège.

Comme pour les êtres humains, l'interception de molécules pathogènes par un système immunitaire est tout aussi indispensable aux plantes : elle leur permet d'assurer leur survie, leur croissance et leur productivité. Leurs réponses de défense reposent entièrement sur une résistance génétique (immunité innée) conférée par une famille de récepteurs exprimés dans des cellules individuelles. Des chercheurs du CNRS, de l'Inra, du CEA-IRTSV et de l'Inserm décrivent un mécanisme de défense particulièrement ingénieux issu de la plante modèle

Arabidopsis lui permettant de convertir l'activité de virulence de molécules pathogènes (effecteurs) en déclencheur d'une réponse immunitaire rapide.

Ralstonia solanacearum, une bactérie responsable du flétrissement bactérien de nombreuses espèces végétales telles que la tomate ou le tabac, a développé une stratégie d'invasion particulièrement efficace : parmi les nombreux effecteurs qu'elle injecte dans les cellules hôtes pour bloquer la mise en place des défenses immunitaires figure la protéine PopP2 dont le mode d'action est ici percé à jour. C'est au sein même du noyau des cellules, où des régions d'ADN sont coiffées de protéines (facteurs de transcription) chargées de réguler l'expression de gènes nécessaires à la mise en place des défenses, que PopP2 est adressée. Une fois dans le noyau, PopP2 utilise son activité enzymatique pour inhiber la liaison de certains facteurs de transcription vis-à-vis de leurs séquences cibles. Ainsi délogées et neutralisées, ces protéines sont incapables d'activer les défenses, permettant alors à l'envahisseur de « déminer » le terrain.

A partir de cette découverte réalisée chez *Arabidopsis thaliana*, une des « proies » de la bactérie *Ralstonia solanacearum*, les chercheurs ont mis en lumière un mécanisme de défense tout aussi radical que celui déployé par la bactérie. Parmi les protéines manipulées par PopP2, l'une d'entre elles se révèle être un leurre directement intégré à un récepteur immunitaire. En s'attaquant à ce leurre, PopP2 déclenche involontairement le système d'alarme.

Cette stratégie moléculaire de « leurre intégré » pourrait être plus répandue qu'il n'y paraît. Ainsi se pose la question de savoir si les domaines de fonction inconnue de récepteurs immunitaires de nombreuses espèces végétales ne pourraient pas s'apparenter à des leurres. Plus qu'une avancée dans la compréhension d'un mécanisme original, cette découverte ouvre la voie à l'élaboration de nouveaux récepteurs immunitaires pouvant intercepter, avec une efficacité redoutable, des facteurs de virulence émanant de pathogènes responsables chaque année de pertes agricoles considérables.

[Ce résultat a fait l'objet d'un communiqué de presse.](#)

[Lien vers le résumé de la publication dans Cell.](#)

Au cœur du virus de la rougeole

Contact : Guy Schoehn

Grâce à de la cryo-microscopie électronique à très haute résolution, une collaboration impliquant des chercheurs de l'IBS a observé la structure de la protéine protégeant l'information génétique du virus de la rougeole. Avec un nouveau traitement en ligne de mire.

Le virus de la rougeole provoque une maladie très contagieuse chez l'Homme. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, cette pathologie « *reste l'une des causes importantes de décès du jeune enfant, alors qu'il existe un vaccin sûr et efficace. En 2013, on a recensé 145 700 décès par rougeole dans le monde* ». En France, la baisse du recours à la vaccination a provoqué une réapparition de la maladie, avec un pic à plus de 15 000 cas en 2011.

Les virus ont la particularité de détourner la machinerie cellulaire de leur hôte à leur profit, pour se multiplier. Celui de la rougeole détient une protéine, appelée nucléoprotéine, enveloppant l'ARN qui lui sert d'information génétique. Après avoir pénétré la cellule, l'ensemble nucléoprotéine-ARN (aussi appelée nucléocapside) doit changer localement de conformation pour permettre la réplication du virus. Une collaboration de chercheurs du CNRS

et de l'IBS a permis de visualiser la nucléocapside à une résolution jamais égalée de 4.3 Å. Pour ce faire, les nucléoprotéines ont été exprimées dans des cellules d'insectes pour former des pseudo-nucléocapsides mimant celles du virus de la rougeole. Elles ont ensuite été rigidifiées, congelées puis visualisées par cryo-microscopie avec un microscope électronique de type Polara. La nucléoprotéine a une forme de mâchoire qui enserme et protège l'ARN. L'analyse de sa structure a permis de mieux comprendre le mode de fixation de la nucléoprotéine à l'ARN pour cette famille de virus, avec 6 bases, alors que par exemple le virus de la bronchiolite en fixe 7. C'est la première fois que la structure d'une nucléocapside hélicoïdale d'un virus à ARN négatif² est résolue à une si petite échelle. Ce résultat éclaire le mode d'interaction entre la nucléoprotéine et l'information génétique du virus. Il pourra permettre la conception de drogues antivirales spécifiques.

[Lien vers le résumé de la publication dans Science.](#)

Développements technologiques

Observer en direct le « réveil » d'une protéine

Contact : Martin Blackledge

Avec quelle dynamique une protéine devient-elle fonctionnelle ? Des chercheurs de l'IBS, en collaboration avec l'EPFL et l'ENS de Lyon, ont conçu un dispositif RMN capable d'observer le « réveil » progressif d'une protéine, de son état inerte à fonctionnel. Une première dans l'analyse de ces molécules biologiques complexes et en perpétuel mouvement.

De nombreux médicaments ciblent des protéines. Comprendre la dynamique d'une protéine et la façon dont elle se lie à ses partenaires est donc essentiel pour développer de nouvelles molécules thérapeutiques efficaces. Or, la complexité de la vie de beaucoup de protéines, et notamment leur plasticité, avec une structure toujours changeante et dépendante des paramètres extérieurs (partenaires, température, etc.), rend leur étude particulièrement difficile. En outre, seules certaines de leurs conformations sont fonctionnelles, comme un seul modèle de clé est capable d'ouvrir une serrure. Une équipe de l'IBS, en collaboration avec l'EPFL1 et l'ENS2 de Lyon, a mis au point une méthode inédite pour étudier la dynamique de ces molécules biologiques très agitées. « *L'idée consiste à « endormir » profondément une protéine et à la regarder se réveiller petit à petit jusqu'à devenir fonctionnelle* », raconte Martin Blackledge, directeur de laboratoire à l'IBS.

L'éveil progressif d'une protéine, d'un état inerte à fonctionnel

Ce sommeil profond est obtenu en abaissant la température à -168°C, température à laquelle les différents composants de la protéine sont figés. En augmentant progressivement la température jusqu'à 7°C, les chercheurs ont vu ces composants s'éveiller les uns après les autres sous l'agitation thermique, à l'image d'un individu au petit matin qui ouvre d'abord un œil, s'étire, et mobilise enfin assez d'énergie pour se lever. Cette astuce expérimentale permet de détecter les mouvements individuels des différents composants d'une protéine ainsi que les

² Il existe des virus à ARN positifs et négatifs. Pour les premiers (hépatites, rubéole, Chikungunya, etc.) le génome est un ARN qui sert tel quel de messenger. Pour les seconds (Ebola, rougeole, grippe, etc.), il faut passer par un ARN messenger de polarité positive, étape réalisée par une enzyme virale.

mouvements collectifs avec un dispositif de spectroscopie RMN³ spécialement adapté. Elle a été testée sur GB1, une classe de protéines interagissant avec les anticorps. Afin de mimer l'environnement de la protéine dans le cytoplasme de la cellule, les chercheurs ont analysé la protéine entourée de molécules d'eau. Lors de la montée en température, ces dernières ont été les premières à s'animer, à -113°C. Les chaînes latérales de la protéine sont ensuite sorties de leur léthargie, suivies par son squelette, à -53°C, température à laquelle la protéine est devenue active. A chaque transition et tout au long du réchauffement, les données de RMN ont permis de visualiser l'interaction entre toutes les parties de la protéine. « *C'est la première fois que l'on reconstitue le film du « réveil » d'une protéine, d'un état inerte à température très basse jusqu'à son état fonctionnel, avec toutes les étapes intermédiaires*, souligne le chercheur. *Nous avons identifié quelle température, donc quelle énergie, est nécessaire pour franchir la barrière menant d'un état à un autre.* »

De la RMN à toutes les températures

La RMN, qui exploite les propriétés magnétiques des atomes d'hydrogène, d'azote et de carbone, est particulièrement difficile à mettre en œuvre pour les différentes configurations de la protéine, solides à basse température et liquides à température ambiante. L'équipe de l'IBS a ainsi développé un dispositif dédié aux températures variables, capable de capter un signal RMN plusieurs jours durant. Pour les phases solides, l'éprouvette contenant les protéines doit être inclinée d'un angle « magique » par rapport au champ magnétique, puis mise en rotation rapide et constante. Afin de s'adapter à l'élévation de température et donc au passage de phases solides à liquides, le système a été doté d'un rotor ajustant automatiquement et précisément l'angle d'inclinaison de l'échantillon.

Ce dispositif de spectroscopie a montré sa puissance pour reconstituer le film du réveil d'une protéine hydratée, une astuce expérimentale permettant d'analyser finement les mouvements des différents composants d'une protéine, pour comprendre comment ils s'articulent afin de rendre la protéine fonctionnelle.

[Ce résultat a fait l'objet d'un communiqué de presse.](#)

[Lien vers le résumé de la publication dans Science.](#)

Une « molécule-interrupteur » pour l'optogénétique

Contact : Valentin Gordeliy

Suite à la découverte de la structure d'une protéine permettant le transport de sodium à travers les membranes bactériennes, une équipe de chercheurs russes, allemands et français (IBS) a conçu un nouvel outil potentiel en optogénétique, champ de recherche à la croisée de l'optique et de la génétique.

La protéine KR2⁴ transporte les ions sodium chargés positivement hors de la cellule, une faculté que les chercheurs en optogénétique ne parviennent pas à exploiter. Jusqu'à présent,

³ Résonance magnétique nucléaire

⁴ En 2013, des scientifiques travaillant sur la bactérie marine *Krokinobacter eikastus* ont découvert, dans la membrane de cette bactérie, une protéine servant de transporteur d'ion et de type inconnu. Baptisée KR2, elle appartient à un groupe de protéines devenues les piliers de la recherche « optogénétique » : exposées à la lumière, cette famille de protéines permet, en transportant des particules chargées à travers la membrane cellulaire, de modifier le potentiel électrique des cellules.

la structure atomique et le mécanisme d'action de KR2 n'étaient pas connus. Ce défi, les chercheurs de l'IBS, du Moscow Institute of Physics and Technology (Russie) et de l'Institute of Complex Systems (Forschungszentrum Jülich, Allemagne) l'ont relevé en utilisant des techniques de cristallographie à rayons X. Ils ont ainsi obtenu la reconstitution 3D exacte de la structure atomique de KR2, ainsi que la structure du complexe moléculaire qu'elle forme en conditions physiologiques.

La structure de KR2 présente des caractéristiques originales, dont une partie hélicoïdale recouvrant l'entrée extracellulaire de la pompe, comme un couvercle. Une caractéristique qui intéresse particulièrement les chercheurs est la structure inhabituelle de la cavité de chargement des ions du côté intracellulaire. Elle est particulièrement large et en protrusion dans le cytoplasme par rapport à la surface de la membrane. Cette structure pourrait agir comme un filtre à l'origine de la sélectivité de KR2 pour les ions sodium.

Pour tester cette hypothèse, les chercheurs ont modifié la structure de ce « filtre » en changeant les acides aminés spécifiques de ce site moléculaire par mutations ciblées. Non seulement KR2 perd effectivement sa compétence vis-à-vis des ions sodium, mais une de ces mutations transforme KR2 en pompe à potassium photosensible – une première du genre.

Ces résultats sont particulièrement intéressants pour des applications potentielles en optogénétique : un neurone activé revient normalement à un état de repos en laissant sortir des ions potassium à travers des canaux ioniques dans sa membrane. Une pompe potassium KR2 mutée pourrait être utilisée pour « éteindre » à volonté, grâce à des impulsions lumineuses, un neurone actif. Elle constituerait alors un système de contrôle précis à disposition des chercheurs.

Les auteurs de l'étude travaillent maintenant au développement d'une méthode d'intégration par transfection⁵ de ce système dans différents types de neurones, et notamment à l'amélioration de l'adressage de ces protéines dans la membrane plasmique des neurones transfectés.

[Ce résultat a fait l'objet d'un communiqué de presse.](#)

[Lien vers le résumé de la publication dans Nature structural and molecular biology.](#)

Macro-bio-molécules, vous êtes cernées

Contacts : Henry Kim et Frank Gabel

Les édifices moléculaires complexes, tels que certaines enzymes, sont aujourd'hui visualisés au moyen d'outils complémentaires : RMN, diffusion de RX, de neutrons... Ces techniques ont, par exemple, permis de déchiffrer un mécanisme de régulation des gènes jusqu'ici inconnu.

Cristallographie, diffusion des rayons X et de neutrons aux petits angles, RMN⁶, ...autant de techniques expérimentales au service de la biologie structurale qui approchent aujourd'hui l'intimité de la complexité organique. En effet, les chercheurs ont à leur disposition des techniques complémentaires leur permettant de visualiser des édifices macromoléculaires avec plusieurs partenaires en solution, de manière à se rapprocher au plus près de la réalité biologique. « *La diffusion des rayons X et des neutrons aux petits angles informe sur la forme*

⁵ Processus de transfert de gènes, c'est-à-dire l'introduction directe de matériel génétique dans des cellules

⁶ Résonance magnétique nucléaire

globale d'un assemblage macromoléculaire, explique Frank Gabel, ingénieur-chercheur CEA à l'IBS. D'autre part, la RMN fournit des données sur l'orientation relative des partenaires. Avec cette approche croisée, nous pouvons atteindre des résolutions jusqu'à 5 Å, selon la complexité des structures. » Mais ces techniques apportent des données très indirectes, que les physiciens interprètent avec des calculs de plus en plus sophistiqués. « Nous avons développé un logiciel permettant aux expérimentateurs d'interpréter les résultats de cette double approche, ajoute le chercheur. Il est à la disposition de la communauté scientifique. »

Une collaboration impliquant l'équipe de Frank Gabel, le centre Helmholtz de Munich (HMGU), l'Université technique de Munich (TUM) ainsi que le Centre de Régulation du Génome de Barcelone, a illustré la puissance de ce renouveau en biologie structurale, avec un article concernant la régulation des gènes, paru dans la revue Nature. La synthèse des protéines passe par deux étapes : la transcription des gènes en molécules d'ARN messenger et la traduction de ces ARNs en protéines. Des mécanismes naturels régulent la seconde étape. C'est le cas de la compensation de dose, un mécanisme essentiel à la vie qui assure le bon équilibre du nombre de protéines exprimées par les paires chromosomiques sexuelles XX des femelles et XY des mâles. Grâce à la combinaison de la RMN, de la diffusion de neutrons et de la diffusion de RX aux petits angles, les chercheurs ont levé le voile sur la régulation des ARNs messagers chez la mouche drosophile. Ils ont montré comment deux protéines, SXL et UNR, collaborent pour reconnaître l'ARN messenger et l'entourent pour former un complexe ternaire. Ce dernier intervient pour s'assurer que l'expression des gènes sur les chromosomes de la femelle est équivalente à celle des gènes présents sur les chromosomes du mâle. Cette structure tridimensionnelle inhabituelle était jusqu'ici inconnue. Selon les scientifiques, il est probable qu'un mécanisme similaire soit aussi présent chez l'Homme.

Lien vers les résumés des publications dans [Acta Crystallographica. Section D, Biological Crystallography](#) et [Nature](#).

Un séquenceur (presque) de poche

Contact : Jean-Marc Aury

Une équipe du CEA-IG a mis au point une méthode informatique combinant deux techniques de séquençage isolément imparfaites. Ils sont parvenus à obtenir des lectures de plusieurs dizaines de kilobases avec un taux d'erreur très faible (<0.01%) pour leur premier essai sur une bactérie.

L'accélération des progrès dans les technologies de séquençage donnent le vertige. En 2003, les scientifiques sont venus à bout d'un génome humain après 15 ans de travail et pour 2 milliards d'euros. Aujourd'hui, les industriels proposent des appareils permettant de séquencer un génome pour moins de 1000 euros en quelques heures seulement. Toutefois, ces technologies « courtes lectures » ne permettent pas de résoudre les problèmes d'assemblage des génomes complexes (comprenant de nombreuses séquences répétées). Les technologies de séquençage « longues lectures » ont été lancées il y a quelques années. Elles permettent, contrairement aux technologies courtes lectures, de résoudre ces problèmes d'assemblage. Cependant, ces technologies possèdent encore des limitations, notamment un taux d'erreur élevé [15-30%], compliquant leur utilisation par les laboratoires de recherche. Des chercheurs du CEA-IG ont eu l'idée de combiner les deux approches avec une technique accessible sur le marché et l'autre encore en période de tests. Cette méthode deux-en-un permet de séquencer et d'obtenir la séquence complète du génome de bactéries avec une bonne fiabilité et en

utilisant des séquenceurs faciles à mettre en œuvre et peu onéreux. La méthode et les données sont mises à la disposition de la communauté scientifique sur le site du Génomoscope (<http://www.genoscope.cns.fr/nas>).

« *L'astuce consiste à combiner les données provenant d'un appareil précis générant de courtes lectures avec des longues lectures imparfaites* », explique Jean-Marc Aury, chercheur au CEA-IG. Ces longues lectures sont obtenues avec l'appareil MinION® de la société Oxford Nanopore Technology. De la taille d'une clé USB, cet outil est testé actuellement par un ensemble de laboratoires dont le Génomoscope. La lecture courte provient d'un appareil classique de la taille d'un ordinateur, commercialisé par la société Illumina. Ainsi, telle la reconstitution d'un puzzle complexe avec des pièces similaires difficiles à placer, la lecture longue donne une vision globale, mais « floue », du génome. La lecture courte donne quant à elle le motif précis des pièces du puzzle. « *Nous alignons les courtes lectures sur les plus grandes*, poursuit le scientifique. *La lecture longue permet de positionner les motifs du génome qui se répètent. Les tests sur la bactérie modèle Acinetobacter baylyi ADP1 ont affiché 95 % de lecture sans erreur. Nous avons ainsi obtenu une lecture de 91 kilobases sans erreur.* » Lancés en parallèle, les deux séquenceurs donnent leurs résultats en moins de deux jours. Moins d'une journée suffit ensuite pour reconstituer l'assemblage du génome. Si le génome de cette bactérie détient 1000 fois moins de bases que celui de l'Homme (3.6 Mégabases versus 3 Gigabases), cette méthode constituera un moyen pour les laboratoires de séquencer leurs modèles de recherche pour un coût limité et sur un coin de leur paillasse.

[Lien vers le résumé de la publication dans BMC Genomics.](#)

Radiobiologie

Trouver son chemin dans les méandres de l'ADN

Contact : Anna Campalans

Dans la cellule, certaines protéines collaborent de façon orchestrée pour réparer les lésions de l'ADN. Une équipe du CEA-IRCM a déterminé le rôle d'une de ces ouvrières dans ces mécanismes, notamment pour indiquer à ses partenaires la position précise de la lésion parmi les milliards de positions possibles⁷.

Suite à l'exposition à des radiations ionisantes ou à un stress oxydant, l'ADN subit des dommages que la cellule doit réparer. Par exemple, il peut se produire un changement ou la disparition d'une base sur l'un des deux brins de l'ADN. Le processus de réparation correspondant se nomme « réparation par excision de base » et fait appel à un ensemble de protéines qui interviennent pour trouver la base altérée ou manquante, et réparer la lésion. Une de ces protéines, dénommée OGG1, est bien connue. « *Elle repère la base modifiée puis l'enlève* », raconte Anna Campalans, chercheuse au CEA-IRCM. D'autres protéines interviennent pour les étapes ultérieures de la réparation. L'une d'entre elles, la protéine XRCC1, suscite l'intérêt des chercheurs qui la soupçonnent de jouer un rôle central dans le processus de coordination des différentes enzymes nécessaires à la réparation des bases

⁷ Les deux brins de la double hélice de l'ADN sont constitués de la succession de bases azotées : adénine (A), cytosine (C), guanine (G) ou thymine (T).

modifiées. Via son interaction avec OGG1, XRCC1 agirait comme un échafaudage ancré sur la lésion permettant de recruter les autres protéines réparatrices.

Pour tester cette hypothèse, les biologistes ont étudié deux types de cellules humaines, le premier exprimant la protéine XRCC1 canonique, alors que le second est uniquement capable de produire une forme variante de XRCC1, incapable de se lier à OGG1. Ils ont ensuite soumis ces deux types de cellules à un stress oxydant important afin d'induire un grand nombre de lésions. Grâce à un marquage par fluorescence, différentes protéines impliquées dans la réparation de ces dommages ont été suivies par microscopie confocale. Résultat : contrairement aux cellules normales, les cellules exprimant la forme variante de XRCC1 ne parviennent pas à réparer correctement les lésions. L'impossibilité de recruter XRCC1 sur les lésions empêche en effet les autres enzymes devant agir en aval d'arriver à bon port. « *Cela crée une instabilité génétique susceptible d'augmenter la probabilité de développer un cancer*, souligne la biologiste. *Des études épidémiologiques montrent d'ailleurs une corrélation entre la présence de formes variantes de XRCC1 et le développement de certains types de cancer.* »

[Lien vers le résumé de la publication dans Molecular and cellular biology.](#)