



**HAL**  
open science

## Relation structure-fonction de protéines membranaires : de l'expérience à la modélisation et vice-versa

Antoine Taly

► **To cite this version:**

Antoine Taly. Relation structure-fonction de protéines membranaires : de l'expérience à la modélisation et vice-versa. Biophysique. Université Paris Diderot - Paris 7- Sorbonne Paris Cité, 2012. tel-01549673

**HAL Id: tel-01549673**

**<https://theses.hal.science/tel-01549673v1>**

Submitted on 30 Jun 2017

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NoDerivatives 4.0 International License

Synthèse de travaux présentée en vue d'obtenir  
l'Habilitation à Diriger des Recherches

Par Mr Antoine Taly

Le 14 juin 2012

Devant le jury composé par :

PROFESSEUR CATHERINE ETCHEBEST - PRESIDENTE  
DR FRANCIN ACHER - RAPPORTEUR  
DR ANNICK DEJAEGERE - RAPPORTEUR  
PROFESSEUR DELPHINE JOSEPH - EXAMINATEUR  
DR THOMAS GRUTTER - EXAMINATEUR

Sujet :

***Relation structure-fonction de protéines membranaires :  
de l'expérience à la modélisation et vice-versa***

## **PLAN**

### **CURICULUM VITAE**

**Expérience professionnelle** page 4

**Détail des compétences** page 5

### **ACTIVITES DE RECHERCHE**

**Projet mené pendant la thèse** page 6

**Projets menés pendant les post-doctorats** page 11

**Projet mené depuis l'intégration au CNRS** page 22

**PERSPECTIVES** page 25

**ACTIVITES D'ENSEIGNEMENT** page 28

**ACTIVITES D'ENCADREMENT** page 30

**FINANCEMENTS OBTENUS** page 31

**PUBLICATIONS** page 32

**ACTIVITES COLLECTIVES** page 35

# CURICULUM VITAE

## **Expérience professionnelle**

Depuis 2011 (Chargé de Recherches)  
Laboratoire de Biochimie Théorique (UPR 9080)  
Institut de Biologie Physico-Chimique, Paris

2009-2011 (Chargé de Recherches)  
Laboratoire de BioPhysicoChimie des récepteurs canaux (Dr Thomas Grutter)  
Laboratoire de Conception et Application de Molécules Bioactives (UMR7199)  
Faculté de Pharmacie, Illkirch.

2006-2009 (Post-doctorat 2)  
Laboratoire de Chimie Biophysique (Prof. Martin Karplus)  
Institut de sciences et d'ingénierie supramoléculaires  
Université de Strasbourg.

2003-2006 (Post-doctorat 1)  
Laboratoire “récepteurs et cognition” (Prof. Jean-Pierre Changeux)  
Institut Pasteur, Paris.

2000-2003 (Thèse)  
Laboratoire “Computational Molecular Biophysics” (Prof. Jeremy C. Smith)  
Interdisciplinary Centre for Scientific Computing  
Université de Heidelberg.

1998-2000 (DEA et Thèse)  
Equipe “Structure et Fonctionnement des protéines redox” (Prof. Pierre Sebban)  
Laboratoire de Chimie Physique  
Université de Orsay.

## Détail des compétences

### Modélisation moléculaire.

- Dynamique moléculaire (Charmm, xplor).
- Calcul de modes normaux de vibrations (Charmm/DIMB, Tirion, DomainFinder).
- Modélisation comparative (Modeller).
- Mécanique quantique (Mopac).
- Structure des petites molécules (ChemDraw 3D).
- Docking protéine/ligands (Autodock, Autodock vina, GOLD, FRED).
- Docking protéine/protéine (3D-dock, Haddock).
- Calculs d'énergie électrostatique de continuum (MEAD, karlsberg).
- Analyse de séquence : Blast, Fasta, Psi-Blast, Clustalx, T-coffee.
- Analyse de structure: Procheck, What\_check, Foldx, Hole, DSSP.
- Visualisation: Turbo-Frodo, VMD, rasmol, molmol, spdbv, pymol.

### Scripting/programmation.

awk, shell, python, fortran.

### Biochimie/Biophysique.

- Expression et purification de protéines membranaires chez *Rhodobacter sphaeroides* (centrifugations différentielles, précipitation au sulfate d'ammonium, chromatographie d'échange d'ions, chromatographie d'affinité pour une étiquette histidines).
- Préparation de protéo-liposomes.
- Analyse de cinétiques de transferts d'électrons par spectroscopie de changement d'absorption déclenchée par flash laser.
- Utilisation de produits radioactifs (stage CEA).
- Tests ELISA.

### Biologie moléculaire.

- Construction de carte de restriction
- clonage et sélection phénotypique.
- mutation ponctuelle.
- mini/maxi-préparation d'ADN.
- Transformation.
- PCR/RT-PCR.

### Neurophysiologie.

- Opérations chirurgicales de rats.
- prélèvement et analyse immuno-histo-chimique des cerveaux.

### Langues.

Français : langue Maternelle.

Anglais : courant.

Allemand : Lu, écrit, Parlé. Niveau « Mittelstufe I » de L'institut Goethe (2000).

# Projet mené pendant la thèse

**« Transferts couplés d'électrons et de protons dans les centres réactionnels de *Rhodobacter sphaeroides*. Approches combinées expérimentale et par modélisation moléculaire. »**

## I. Description Générale

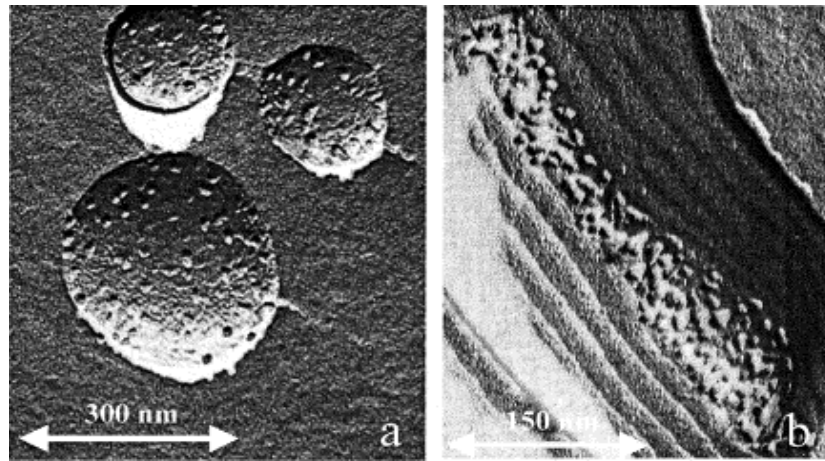
J'ai effectué ma thèse en co-tutelle entre les universités de Heidelberg (Allemagne) et d'Orsay (France). Mes travaux ont porté sur l'étude des transferts d'électrons et de protons dans le centre photosynthétique de *Rhodobacter sphaeroides* (bactérie pourpre). Ma thèse s'est construite autour de travaux expérimentaux (réalisés à Orsay sous la direction du Professeur Pierre Sebban) et de modélisation (réalisés à Heidelberg sous la direction du Professeur Jeremy Smith). Cette approche nous a permis d'élaborer des modèles structuraux rendant compte de l'activité biologique de la protéine.

## II. Détail des travaux les plus significatifs pour le projet de recherche

Les transferts d'électrons et leur couplage aux transferts de protons sont des événements clés dans la physiologie des organismes vivants, en particulier dans la photosynthèse et la respiration. Nous avons étudié l'effet de la modification de certains facteurs environnementaux (pH, fixation d'ions de métaux de transitions) sur les processus de transfert d'électrons et de protons dans les centres réactionnels de *Rhodobacter sphaeroides*. L'effet de la modification des facteurs environnementaux étudiés est très controversé. Ces modifications ont été étudiées par spectroscopie de changement d'absorption et par modélisation moléculaire ce qui nous a permis de tester les hypothèses en cours dans la littérature. Ce travail a conduit aux résultats suivants :

### ***A. Influence de l'environnement membranaire sur les propriétés de transfert d'électron***

Nous avons tout d'abord voulu tester l'effet de l'environnement membranaire sur les propriétés de transfert d'électrons pour discriminer les différentes étapes limitantes impliquées dans le premier et le second transfert d'électrons. Expérimentalement, des centres réactionnels ont été incorporés dans des liposomes de DiMyristoyl-PhosphatidylCholine (DMPC) (Figure 1).



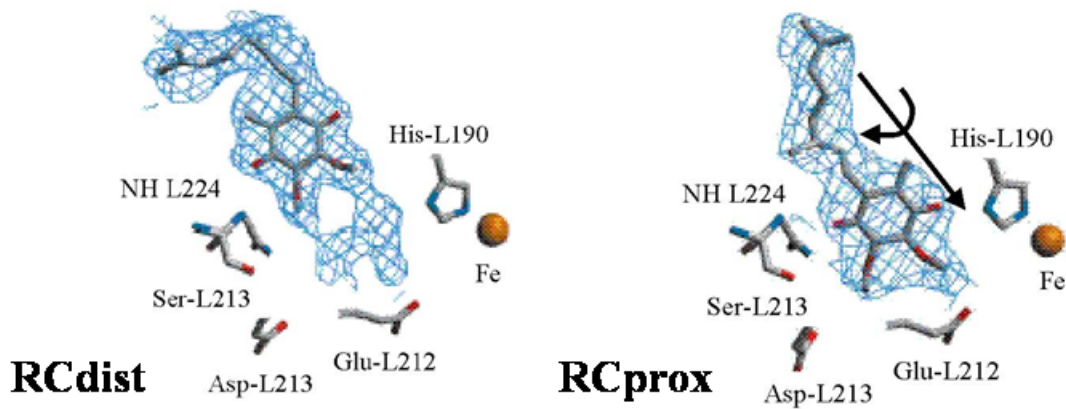
**Figure 1.** Images de microscopie électronique des vésicules de DMPC contenant des centres réactionnels (CR) de *Rb. sphaeroides*. A: Congelées depuis  $T=30^{\circ}\text{C}$  ; les CR sont répartis sur la surface du liposome. B: Congelées depuis  $T=4^{\circ}\text{C}$  ; en dessous de la transition de phase ( $23^{\circ}\text{C}$ ) les liposomes changent de forme (forme allongée, « vagues ») et les CR sont regroupés.

Nous avons montré que la transition de phase lipidique du DMPC affecte différemment le premier et le second transfert d'électron entre les quinones primaire ( $Q_A$ ) et secondaire ( $Q_B$ ). Le second transfert est sensible à la transition de phase (Figure 2) alors que le premier transfert ne l'est pas. On peut en déduire qu'un élément lié à cette transition (flexibilité des lipides, agrégation des protéines, etc) influence le second transfert d'électron mais pas le premier. Cette observation confirme donc la différence de nature des étapes limitantes impliquées dans les processus de ces deux transferts d'électrons. [Taly, A., Baciou, L. & Sebban, P. (2002) *FEBS Letters*, **532**, 91-96.] Ces travaux ont été poursuivis par une nouvelle étudiante en thèse dans le laboratoire du Prof. Pierre Sebban à l'université d'Orsay.

**Figure 2.** Tracé de Eyring des vitesses du second transfert d'électron pour les centres réactionnels isolés en détergent (triangles), reconstitués en vésicules de DMPC (carrés) et purifiés dans leur membrane naturelle (losanges).

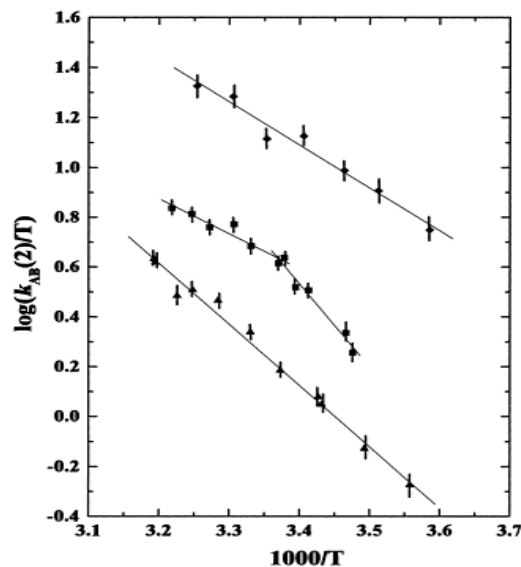
### B. Influence du pH sur la position de $Q_B$

Dans la littérature, la quinone secondaire ( $Q_B$ ) est observée par cristallographie aux rayons X principalement dans deux positions. Il a été proposé que l'équilibre entre ces deux positions dépend de l'état redox de  $Q_B$  et contrôle les transferts d'électrons (Figure 3) (1). Ce cofacteur (et sa position) occupe une place centrale dans la fonction de la protéine puisqu'il est le site du couplage des transferts d'électrons et de protons, étapes limitantes du cycle.

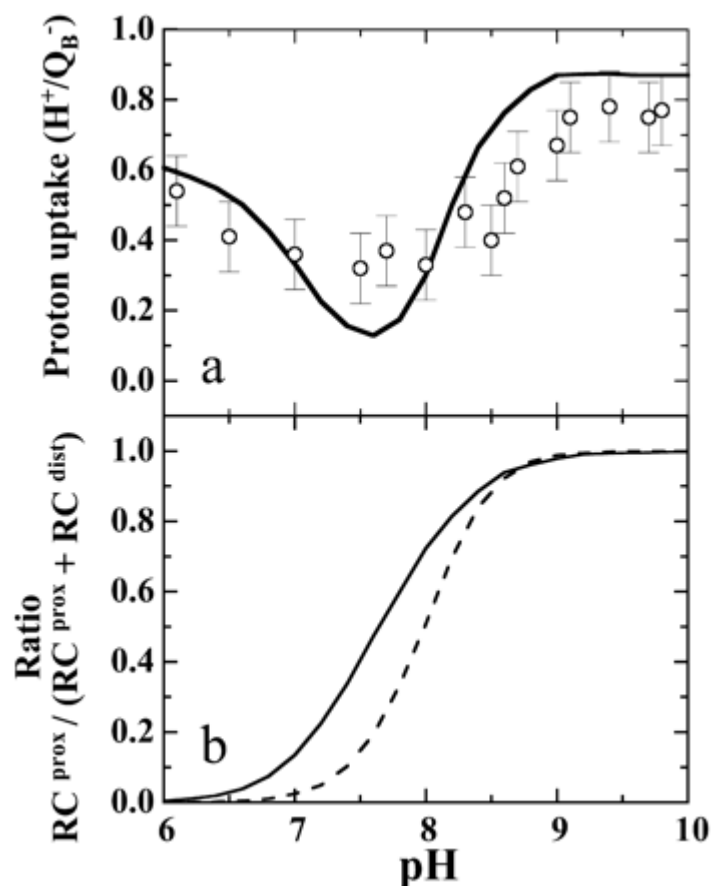


**Figure 3.** Les deux positions de la quinone secondaire observées par cristallographie aux rayons X (1). A gauche, la structure est obtenue à l'obscurité, dans ces conditions la quinone est oxydée et est observée en position « distale » (par rapport au Fer) ; on note le centre réactionnel  $RC^{prox}$ . A droite la structure est obtenue à la lumière, dans ces conditions la quinone est réduite et est observée en position « proximale » ; on note le centre réactionnel  $RC^{dist}$ .

Grâce à des calculs d'électrostatique de continuum réalisés sur les structures cristallographiques décrites dans la Figure 3, nous avons pu tester l'hypothèse d'un équilibre  $Q_B$  ne dépendant que de son état redox (1) en calculant les « prises de protons » (augmentation du nombre de protons portés par la protéine en réponse à la réduction de  $Q_B$ ). Nous avons observé qu'un simple équilibre de  $Q_B$  en fonction de son état redox ne permet pas de reproduire les données expérimentales. Par contre, nous avons pu proposer un modèle dans lequel cet équilibre conformationnel dépend non seulement de l'état redox de  $Q_B$  mais aussi du pH de la solution (Figure 4) [Taly A, Sebban P, Smith JC, Ullmann GM. *Biophys J.* 2003 Mar;84(3):2090-8.].







**Figure 4** (a) Prise de protons en réaction à la réduction de  $Q_B$ , calculée en considérant un équilibre conformationnel entre  $RC^{prox}$  and  $RC^{dist}$  pour  $Q_B$  and  $Q_B^-$  (ligne noire). Les valeurs expérimentales à différents pH sont représentées par les cercles gris. (b) Equilibrium between  $RC^{prox}$  and  $RC^{dist}$  structures. The calculated ratio  $RC^{prox}/(RC^{prox} + RC^{dist})$  is shown for oxidized (dashed line) and reduced (solid line)  $Q_B$ .

Ces observations ont permis de remettre en cause le modèle proposé sur la base de la cristallographie à pH 8. De plus, ce modèle prédictif a encouragé des expériences de cristallographie aux rayons X. Les résultats obtenus confirment largement que le pH influence la position de  $Q_B$  [pH modulates the quinone position in the photosynthetic reaction center from rhodospirillum rubrum in the neutral and charge separated states Koepke J., Kramer E.-M., Klingenberg A.R., Sebban P., G.-M. Ullmann & G. Fritzsche *J. Mol. Biol.* **371**:396-409 (2007)]. On voit ici le rôle majeur des résultats de modélisation qui ont permis de diriger la réalisation d'expériences complémentaires.

### C. Effet de la fixation de cadmium

La fixation des ions de métaux de transition sur un site spécifique présent à la surface des centres réactionnels entraîne un ralentissement des transferts de protons vers la quinone secondaire. Il existe dans la littérature un débat pour déterminer si cet effet est local (2), sur les résidus qui participent à la fixation, ou plus délocalisé. Nous avons d'abord étudié la

constante de dissociation du cadmium en fonction du pH [Gerencser L, Taly A, Baciou L, Maroti P, Sebban P. *Biochemistry*. 2002 Jul 23;41(29):9132-8.]. D'autre part nous avons utilisé les calculs d'état d'ionisation des résidus en fonction du pH (Taly et al. *Biophys. J* 2003). La combinaison de ces résultats a ensuite été utilisée pour décrire la relation entre la fixation de cadmium et l'état d'ionisation des résidus de la protéine [Taly A, Thèse de doctorat, Orsay 2003.]. Ce modèle explicatif suggère que l'ion cadmium interagit de manière électrostatique avec un domaine large de la protéine (interaction délocalisée). Ces travaux ont notamment été repris et étendus par le laboratoire du Prof. W. Knapp (Université libre de Berlin, Allemagne; membre du jury de thèse) (3) et sont poursuivis dans le laboratoire du Prof. M. Ullmann (Université de Bayreuth, Allemagne; co-encadrant de thèse).

### III. Conclusion

Une des caractéristiques fondamentales de ma thèse a été l'échange permanent entre expérimentation et modélisation. En étudiant l'influence du pH sur la position de  $Q_B$  nous avons construit un modèle prédictif, permettant de proposer des expériences complémentaires. Pour comprendre l'effet de la fixation de cadmium nous avons construit un modèle explicatif permettant de rationaliser les résultats expérimentaux.

### Références

- (1) Stowell MH, McPhillips TM, Rees DC, Soltis SM, Abresch E, Feher G. *Science*. 1997 May 2;276(5313):812-6.
- (2) Paddock ML, Feher G, Okamura MY. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 Feb 15;97(4):1548-53.
- (3) Ishikita H, Knapp EW. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Nov 8;102(45):16215-20.

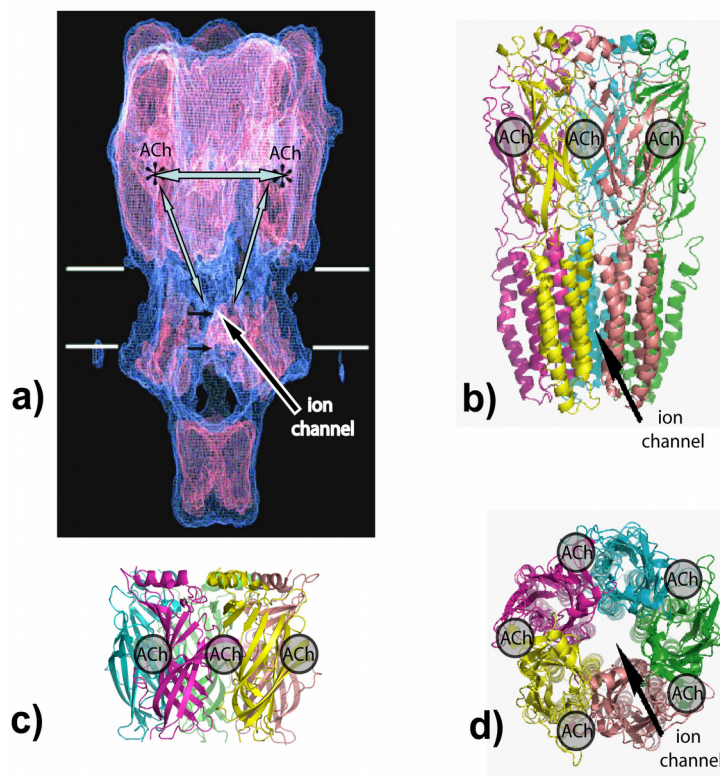
Les résultats présentés ici ont été obtenus au cours de deux post-doctorats réalisés à l'Institut Pasteur (2003-2006) et à l'Université de Strasbourg (2006-2009). Le projet d'étude du récepteur nicotinique de l'acétylcholine a été initié à l'institut Pasteur (parties I) et poursuivi à Strasbourg (partie II). De plus un projet annexe de docking d'inhibiteurs de kinase a été développé à Strasbourg avec des collaborateurs locaux (partie III).

**“Modélisation à l'échelle atomique des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine : structure et flexibilité“**

J'ai effectué un premier post-doctorat à l'institut Pasteur dans l'équipe du professeur Jean-Pierre Changeux. Mes travaux ont porté sur l'étude de la structure et des transitions conformationnelles du récepteur nicotinique de l'acétylcholine (nAChR). J'ai réalisé des travaux entièrement théoriques et en relation avec des travaux expérimentaux du laboratoire.

## **I. Structure et Mécanisme d'Activation**

Les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChRs), en plus de leur rôle primordial dans la transmission neuromusculaire et motrice autonome, sont impliqués dans diverses fonctions au niveau du système nerveux central, en particulier dans le contrôle des mouvements volontaires, la mémoire et l'attention, le sommeil et la veille, la douleur et l'anxiété (4). L'analyse électrophysiologique des nAChRs montre que l'application rapide d'Acétylcholine (ACh) provoque l'ouverture transitoire du canal, alors que l'application prolongée d'ACh conduit à une importante diminution de la réponse ou « désensibilisation ». Les phénomènes d'activation et de désensibilisation sont classiquement interprétés dans le cadre d'un modèle dans lequel la protéine est spontanément en équilibre entre un état basal B, activable par l'ACh, un état actif A où le canal est ouvert et un (ou plusieurs) état(s) désensibilisé(s) D réfractaire(s) à l'activation. Les ligands stabilisent l'état pour lequel ils ont une plus haute affinité : les agonistes, comme la nicotine, stabilisent l'état actif alors que les antagonistes, notamment les toxines, stabilisent l'état de repos. Les nAChRs contiennent tous les éléments nécessaires à la conversion d'un signal chimique (libération d'ACh dans la synapse) en message électrique (de dépolarisation de la membrane cellulaire) : les sites de reconnaissance de l'ACh et un canal cationique qui sont couplés l'un à l'autre.



**Figure 5.** Structure du nAChR et de l'« acetylcholine binding protein » (AChBP). Panel (a) données de microscopie électronique obtenues à partir de cristaux 2D d'organes électriques de *Torpedo* {Unwin, 2000 #55}. Panel (c) structure aux rayons-X de l'AChBP {Brejc, 2001 #112}. (b) et (d) modèle du pentamère du nAChR alpha7 obtenu par modélisation comparative (voir plus bas) présenté en vue latérale (b) et de dessus (d).

L'étude des transitions conformationnelles, à l'échelle atomique, s'avère nécessaire à la compréhension des pathologies associées aux nAChRs (dépendance à la nicotine, myasthénies congénitales, épilepsies, schizophrénie, maladie d'Alzheimer, etc...) et pour ouvrir des voies de conception rationnelle de ligands. Jusqu'à présent, il n'existe pas de structure cristallographique d'un récepteur nicotinique de l'acétylcholine eukaryote complet. Cependant, de nombreuses données de séquence (5) et des informations structurales (6,7) ont été accumulées sur différents récepteurs nicotiniques et sur des protéines homologues (Figure 5).

La première partie de mon projet a consisté à obtenir un modèle atomique du récepteur en utilisant les structures obtenues par microscopie électronique et cristallographie (section A). Cette structure a été analysée pour montrer qu'elle est en accord avec les données de la littérature, puis elle a été utilisée pour interpréter les données produites au laboratoire à l'institut Pasteur sur les relations structure/fonction du nAChR (section B).

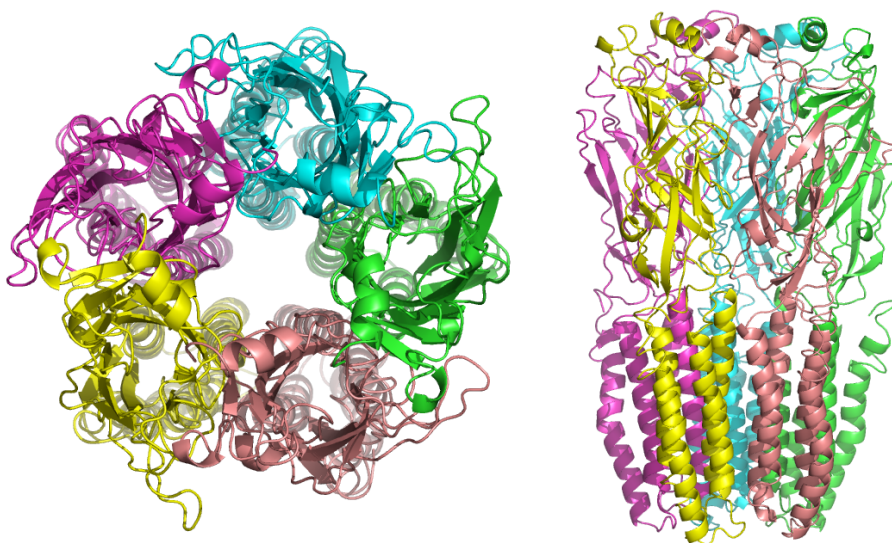
J'ai également étudié la flexibilité du nAChR par analyse de modes normaux, ce qui permet de suggérer un mécanisme pour la transition conformationnelle à l'échelle atomique (section C).

## ***A. Construction d'un modèle statique par modélisation comparative***

Nous avons décidé de travailler sur un récepteur de type  $\alpha$ -7 neuronal, qui forme un homopentamère régulier, notamment parce que de nombreuses données expérimentales sont disponibles pour ce nAChR (accessibilité des résidus au solvant, mutants et chimères, etc...). Nous avons construit un modèle tridimensionnel du récepteur incluant les domaines extracellulaires et transmembranaires.

La première étape a été de construire une structure complète en utilisant les structures issues des expériences de cristallographie (AChBP, homologue au domaine extracellulaire) (7) et de microscopie électronique (domaine transmembranaire de Torpille) (8) (Figure 1). J'ai ensuite utilisé cette structure comme gabarit dans une expérience de modélisation comparative (Figure 6).

Cette structure a été analysée pour vérifier qu'elle est en accord avec les données de la littérature. Nous avons vérifié notamment que les résidus homologues aux résidus du récepteur GABA qui ont été identifiés comme proche par pontage chimique sont effectivement voisins sur la structure. De même, les résidus de l'hélice qui forme le canal ionique sont correctement orientés par rapport au solvant [Taly A, Delarue M, Grutter T, Nilges M, Le Novère N, Corringer PJ and Changeux JP *Biophys. J.* Jun; 88(6):3954-65.]. Nous disposons donc d'un modèle raisonnable de la structure de nAChR qui a ainsi pu être utilisé pour analyser des données expérimentales (section B) ou étudier la flexibilité de la protéine (section C).



**Figure 6.** Modèle du pentamère du nAChR alpha7 obtenu par modélisation comparative présenté en vue de dessus (gauche) et de dessous (droite).

## ***B. Collaboration aux travaux expérimentaux du laboratoire***

J'ai réalisé des modèles structuraux de chimères étudiées dans le laboratoire dirigé par Jean-Pierre Changeux par modélisation comparative en utilisant le modèle préalablement décrit.

Des expériences de mutagenèse réalisées sur une chimère, construite au laboratoire, avaient montré que les résidus du segment C-terminal de l'hélice 4 sont impliqués dans la maturation du récepteur. Un modèle de cette chimère a permis de suggérer que l'action de ces résidus est liée à leur interaction avec des résidus d'une boucle très conservée au cours de l'évolution [Pons, S., Sallette, J., Bourgeois, J. P., **Taly, A.**, Changeux, J. P. & Devillers-Thiéry, A. (2004) *Eur. J. Neuroscience* **20** (8), 2022-2030.]

Des modèles de structures ont été réalisés par modélisation comparative pour permettre la conception de chimères permettant d'étudier le couplage entre les deux domaines et d'essayer d'inclure l'AChBP dans une chimère fonctionnelle. Le but était de vérifier si l'on peut obtenir une chimère fonctionnelle en utilisant un homologue dont la fonction a divergé (l'AChBP ne réalise pas de transition). Les chimères ont été réalisées par biologie moléculaire et leur analyse a été réalisée notamment à l'aide des modèles. [T Grutter, L Prado de Carvalho, V Dufresne, **A Taly**, M Fischer, and J-P Changeux *Comptes rendus de l'académie des sciences* Mar; 328(3):223-34.]

Des expériences de chimérogenèse ont été réalisées pour étudier le couplage entre les deux domaines et essayer de coupler un domaine extracellulaire avec un domaine membranaire d'un homologue. La réalisation d'une chimère fonctionnelle suggère que les homologues utilisés, quoique distants, conservent un même mécanisme d'activation. La conception des chimères ainsi que leur analyse ont été réalisées à l'aide de modèles de structures réalisés par modélisation comparative [Grutter T, de Carvalho LP, Dufresne V, **Taly A**, Edelstein SJ, Changeux JP. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Dec 13; 102(50):18207-12.].

Une analyse de génomes (BLAST) a permis de proposer qu'il existe des homologues bactériens du récepteur nicotinique. Après avoir choisit, par analyse des séquences, la cible la plus appropriée, le gène a été cloné, la protéine exprimée et sa fonctionnalité a été testée par électrophysiologie. Un modèle a été obtenu par modélisation comparative permettant de

proposer des expériences de mutagenèse qui ont documenté l'homologie avec le récepteur nicotinique [Bocquet N, Prado de Carvalho L, Cartaud J, Neyton J, Le Poupon C, **Taly A**, Grutter T, Changeux J-P and P-J Corringer. *Nature*. 2007 Jan 4;445(7123):116-9.]

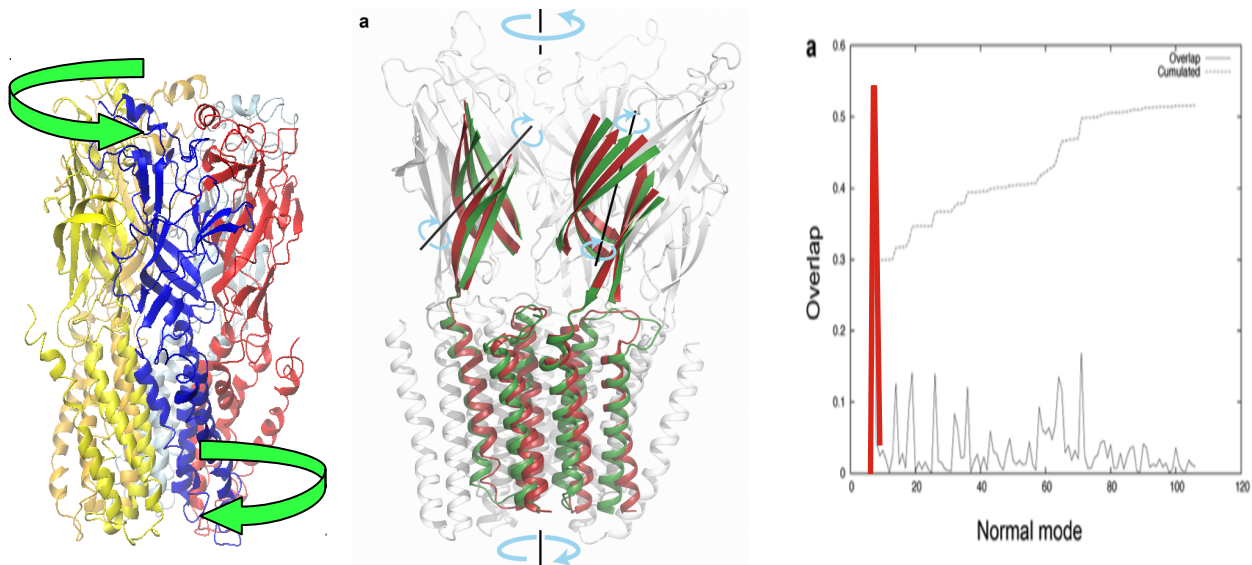
### **C. Calcul des mouvements de la protéine par analyse de modes normaux**

Nous avons étudié la flexibilité de la protéine afin de proposer un mécanisme d'activation. Dans ce but nous avons utilisé une méthode qui permet de calculer les mouvements globaux des protéines : l'analyse de modes normaux. Généralement un ou deux modes (ceux de plus basse fréquence) permettent de décrire la transition entre deux conformations.

Pour choisir le ou les modes à utiliser, parmi les cents modes normaux obtenus, pour rendre compte des changements de conformation associés au fonctionnement du récepteur, j'ai calculé la propension de chacun des dix premiers modes à induire une ouverture du canal. Ceci nous a conduit à choisir le premier mode (celui de plus basse fréquence, le plus favorable énergétiquement).

L'exploration de ce mode a été réalisée de manière à induire une déviation des carbones alpha de 3 Å environ. Ensuite, la structure complète a été reconstruite et le récepteur soumis à une étape de minimisation générant ainsi deux nouvelles structures. Sur une de ces structures on observe clairement une ouverture du canal. Le changement de conformation observé est donc compatible avec la transition de l'état de repos vers l'état actif.

La comparaison de la structure « ouverte » et des structures « fermées » rend bien compte des données expérimentales de microscopie électronique (8) d'accessibilité des cystéines (9) et de cristallographie d'homologues bactériens. Ces structures permettent donc de suggérer un mécanisme de transition conformationnelle permettant l'ouverture du canal (Figure 7). [**Taly A**, Delarue M, Grutter T, Nilges M, Le Novère N, Corringer PJ and Changeux JP *Biophys. J.* Jun; 88(6):3954-65.] Ces résultats ont rencontré un large écho (91 citations) et le modèle proposé est maintenant assez largement accepté



**Figure 7.** Mécanisme d'activation du récepteur nicotinique. Gauche : Mécanisme d'ouverture (torsion) proposé en utilisant l'analyse de modes normaux (en 2005). Milieu : Mécanisme proposé en se basant sur des structures cristallographiques (en 2009). Droite : contribution des modes au changement de conformation observé sur les structures cristallographiques ; le mode de torsion est représenté en rouge.

## Références

- (4) Cordero-Erausquin M, Marubio LM, Klink R, Changeux JP. (2000) *Trends Pharmacol Sci.* 21 : 211-7.
- (5) Le Novere N. and Changeux J.P. (2001) *Nucleic Acids Res.* 2001 Jan 1;29(1):294-5.
- (6) Miyazawa A, Fujiyoshi Y, Unwin N. *Nature.* 2003 Jun 26;424(6943):949-55.
- (7) Brejc, K., van Dijk, W.J., Smit, A.B. and Sixma, T.K. (2002) *Novartis Found Symp* 245, 22-9; discussion 29-32, 165-8.
- (8) Unwin N. *Nature.* 1995 Jan 5;373(6509):37-43.
- (9) Wilson G, Karlin A. (2001) *Proc Natl Acad Sci U S A.* 98(3):1241-8.

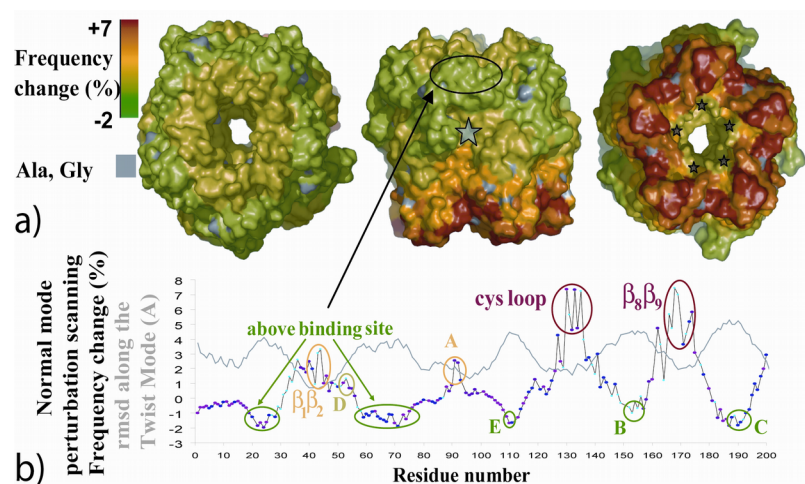


## II. Role du ligand dans l'activation des nAChR

Le projet initié à l'institut Pasteur a été poursuivi à Strasbourg dans le laboratoire dirigé par le professeur Martin Karplus notamment dans le but de corréler le modèle à des effets physiologiques (fixation des ligands et mutations). Nous avons ainsi pu montrer que i) le site de fixation des ligands correspond à une zone de la protéine propice à la régulation du mouvement associé à l'ouverture du canal (section A) ii) les mutations pathologiques du récepteur se situent elles aussi dans des zones qui sont susceptibles d'influer sur le mouvement associé à l'ouverture du canal [Taly A, Corringer P-J, Grutter T, Prado de Carvalho L, Karplus M and JP Changeux. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Nov 7; 103 (45) 16965-70.].

### A. Role du site de fixation des ligands dans l'activation du récepteur

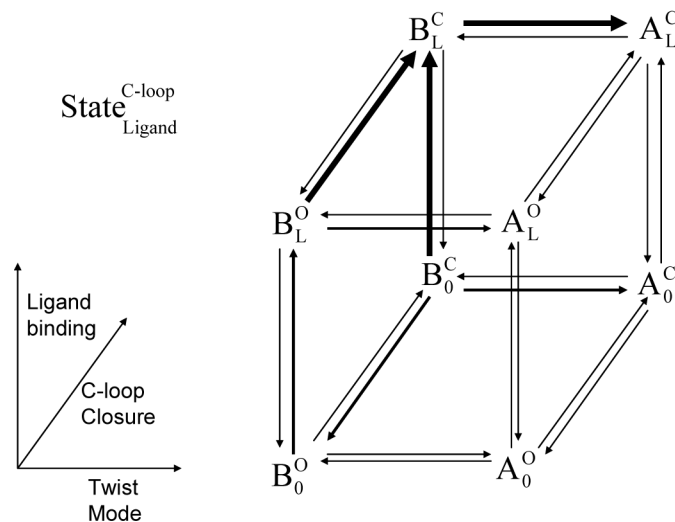
Dans le but d'identifier les sites de la protéine qui peuvent réguler l'activation représentée par le mode de torsion décrit plus haut nous avons introduit une perturbation successivement au niveau de chaque résidu, en s'inspirant des expériences de type 'alanine scanning'. Cette approche a notamment identifié trois des boucles (B, C and E) qui forment le site de fixation des ligands pour leur capacité à faciliter la transition (Figure 8). [Taly A, et al. *PNAS* 2006]



**Figure 8.** Etude des points chauds de la protéine. En haut l'effet est représenté sur la structure en utilisant un code couleur allant de vert (facilite l'activation) à rouge (limite l'activation). En bas résultat en fonction de la position sur la séquence.

Ce résultat nous a conduit à reconsidérer le rôle de la boucle C. En effet il a été observé, au cours des études de cristallographie aux rayons-X de l'AChBP, que cette boucle peut avoir deux positions en fonction de la présence d'un agoniste ou d'un antagoniste. Le site

est « ouvert » en présence d'antagonistes et la boucle « ferme » le site en présence d'agonistes. En combinant ces deux données on peut proposer un nouveau modèle dans lequel deux changements de conformations ont lieu : le mouvement de torsion et le mouvement de la boucle C (Figure 9) [Taly A and Changeux J-P *Ann NY Acad Sci*, 2008.]



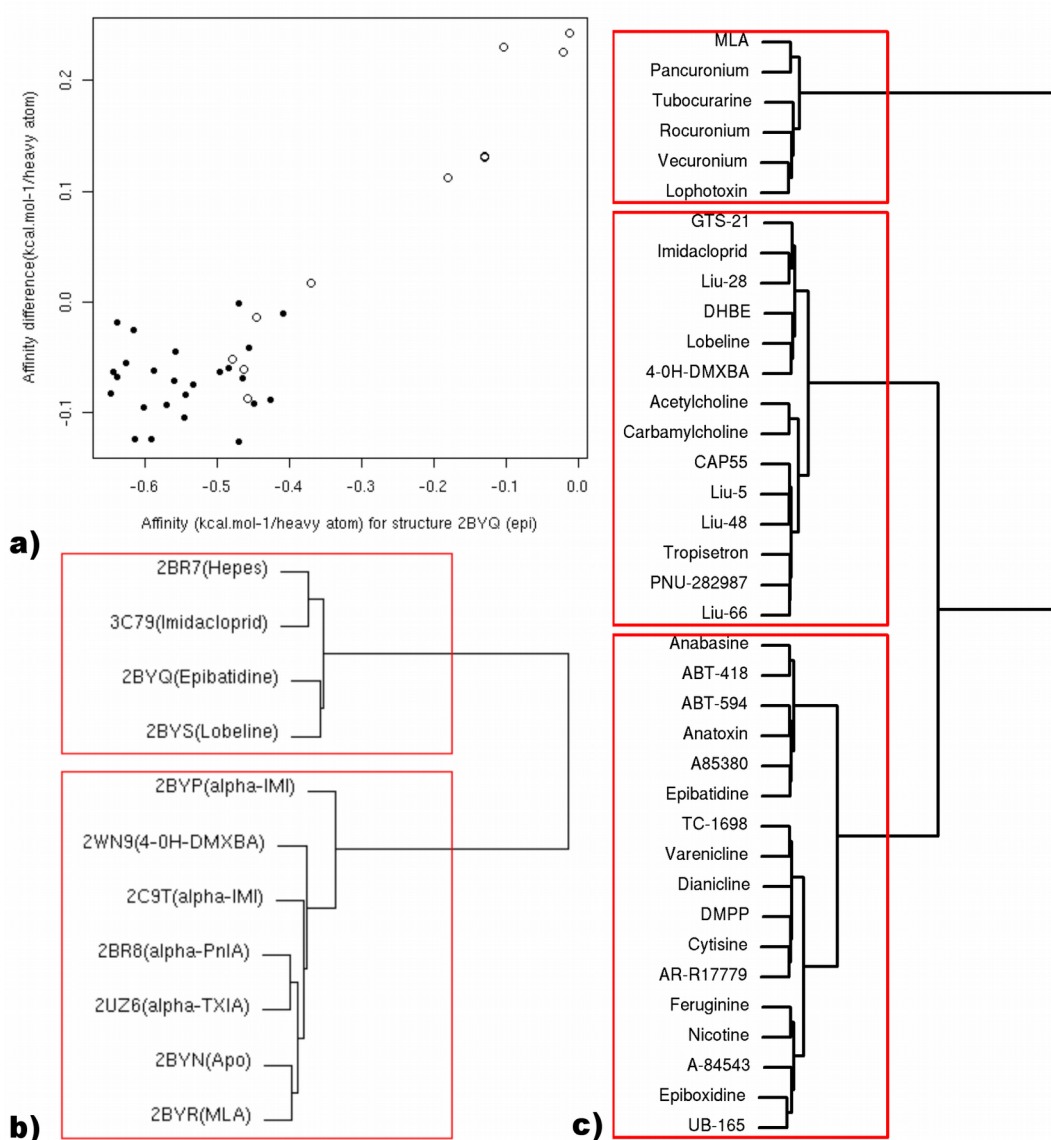
**Figure 9.** Modèle pour l'activation du nAChR qui prend en compte le mode de torsion et le mouvement de la boucle C du site de fixation des ligands.

## B. Docking de ligands du nAChR

Nous avons cherché à étudier la fixation d'un ligand en relation avec un des changements de conformation de l'activation du nAChR (le mouvement de la boucle C). Le système le plus simple pour initier ces travaux était la fixation de cobratoxine. En effet cet antagoniste ne se fixe que dans l'état de repos. Nous avons tout d'abord montré que l'on peut reproduire le mode de fixation observé par cristallographie aux rayons-X. Nous avons ensuite observé que la toxine ne peut se fixer que quand le site est « ouvert ». [Konstantakaki M, Changeux J-P and Taly A. *Biochem Biophys Res Commun.* 359(3), 2007, 413-418.]. Ces résultats sont en accord avec le modèle proposé plus haut (Figure 5) comme l'a confirmé une étude récente de l'effet de la fixation de la toxine sur la flexibilité du récepteur (10). En effet, il a été observé que la toxine inhibe le mouvement de torsion et donc l'ouverture du canal.

Le lien entre changement de conformation et effet des ligands ouvre la voie au docking de petits ligands pour des projets de conception rationnelle de ligands. Nous avons donc étudié la fixation d'une petite bibliothèque de ligands du nAChR sur l'AChBP. Nous avons montré que l'on peut espérer discriminer agonistes et antagoniste (Figure 10) [Taly A,

Colas C, Malliavin T, Blondel A, Nilges M, Corringer P-J and D Joseph ; *J Mol Graph Model* 2011]. Cette possibilité est naturellement importante pour les projets de conception de nouveaux ligands des nAChR. En effet, les projets de conception de ligands qui visent la synthèse d'agonistes aboutissent généralement à la création d'antagonistes. Nous avons ainsi obtenu un contrat de recherche financé par Servier qui compte utiliser nos structures pour ses campagnes de criblage virtuel.



**Figure 10.** Docking d'une bibliothèque de ligands du nAChR sur diverses structures de l'AChBP. a) graphique de la différence d'affinité (2BYQ-2BYR) en fonction de l'affinité pour la structure 2BYQ (obtenue en présence de l'agoniste épibatidine) pour les agonistes (points noirs) et les antagonistes (points blancs). b) Clusterisation des structures de l'AChBP en se basant sur leurs profile d'affinité pour les ligands du nAChR. c) Clusterisation des ligands du nAChR en se basant sur leurs profile d'affinité pour les structures de l'AChBP.

## Référence

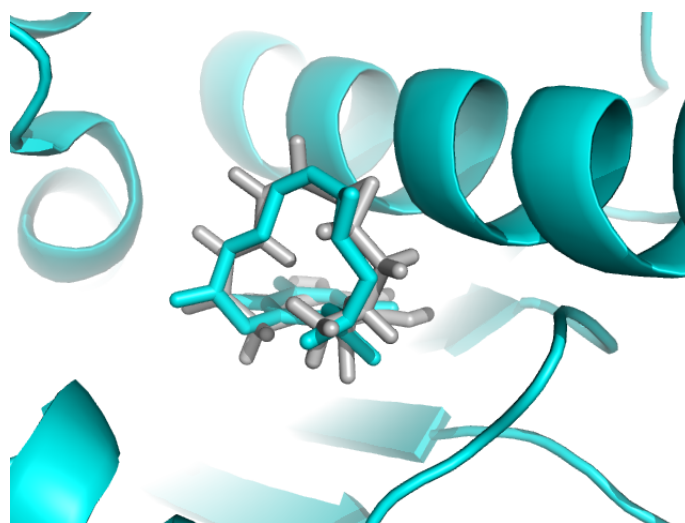
(10) Samson AO, Levitt M. *Biochemistry*. 2008 Apr 1;47(13):4065-70.

### III. Mode de fixation d'inhibiteurs de kinases

A Strasbourg j'ai également participé à une collaboration avec le Prof. N Winssinger (ISIS, Université Louis Pasteur, Strasbourg). Le projet est tourné vers la recherche d'inhibiteurs de kinases qui sont notamment des cibles de thérapies anti-cancéreuses. Ma contribution consiste à réaliser du « docking » d'inhibiteurs potentiels pour permettre de réaliser de manière rationnelle des modifications de la structure des composés existants susceptibles d'augmenter leur affinité. Le professeur Winssinger étudie des candidats inhibiteurs mais il est nécessaire de connaître leur mode de fixation pour permettre des modifications supplémentaires. Il est aussi utile de pouvoir tester les modifications imaginées par les expérimentateurs.

#### A test de la méthode

Nous avons tout d'abord confirmé la validité de notre protocole en réalisant le docking d'un ligand pour lequel des données de cristallographie aux rayons X existent. Nous avons constaté que l'on reproduit bien le mode de fixation expérimental (Figure 11).

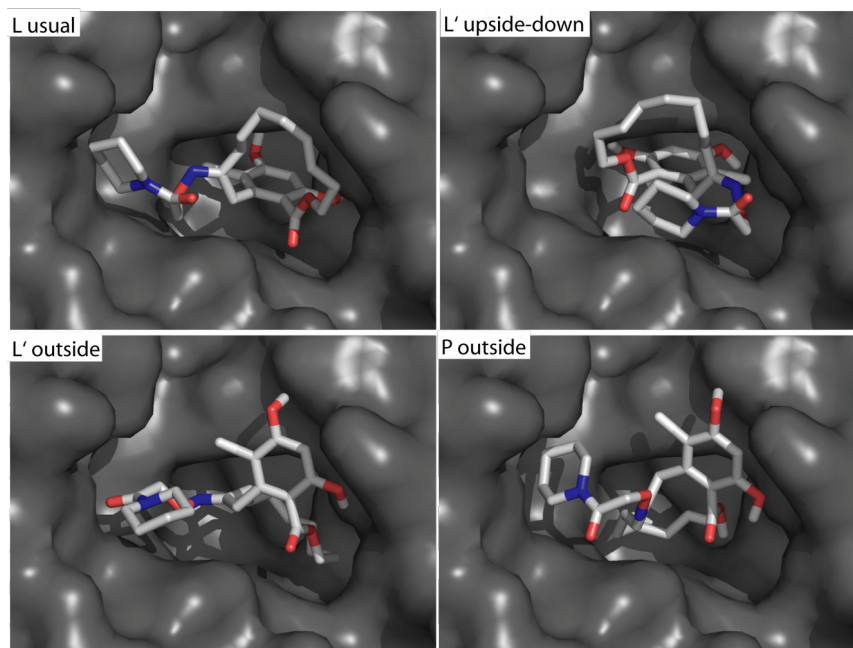


**Figure 11.** Mode de fixation du radicicol, un inhibiteur sur la kinase HSP90. Le résultats de docking est représenté en blanc, la structure par cristallographie aux rayons X en bleu.

#### B Prédiction du mode de fixation d'un composé d'intérêt

Nous avons ensuite utilisé le même protocole pour un nouveau composé et avons obtenu quatre modes de fixation possibles (Figure 12). Deux modes de fixation ont pu être écartés car ils ne permettent pas de reproduire des déplacements chimiques obtenus par RMN. Les données de relation structure/activité de la série de composés ont enfin permis de

proposer le mode de fixation du candidat inhibiteur (Lusual).



**Figure 12.** Modes de fixation d'un candidat inhibiteur sur la kinase HSP90. Les modes Lusual et Poutside permettent de reproduire les données de RMN. Le mode Lusual permet également d'expliquer les relations structure/activité du composé.

mode	AD <sup>a</sup>	LIE <sup>b</sup>	NMR <sup>c</sup>	SAR <sup>d</sup>
L.usual	+	+	+	+
L'.upside-down	+	-	-	-
L'.outside	+	-	+	-
P.outside	-	+	-	-
P'.outside1	-	+	+	-
P'.outside2	-	-	+	+

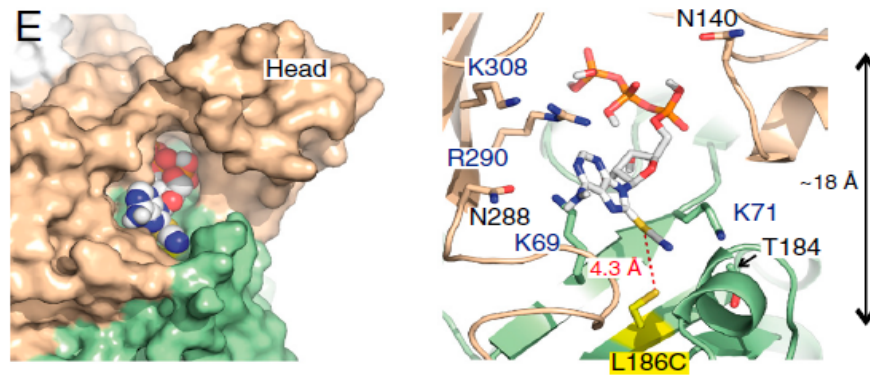
## CR2 : « Modélisation à l'échelle atomique des récepteurs purinergiques de l'ATP de type P2X »

Les récepteurs ionotropiques P2X contiennent un pore intrinsèque constitué par l'oligomérisation de sous-unités identiques ou homologues (11-13). Ils changent de conformation d'un état de repos (fermé) vers un état actif (ouvert) en réponse à la fixation d'ATP, permettant le passage de cations. Ces transitions sont à la base du fonctionnement de ces récepteurs canaux, car elles couplent l'ouverture et la fermeture du canal ionique à l'occupation des sites agonistes par l'ATP. Pour comprendre ce couplage nous étudions **les mécanismes moléculaires responsables des transitions conformationnelles du récepteur P2X**.

### I mode de fixation de l'ATP

Les récepteurs P2X ATP-dépendants sont des canaux ioniques trimérique, comme l'a récemment confirmée une étude par cristallographie aux rayons X. Les cristallographes ont montré que des cavités entre sous unités sont tapissées de résidus d'acides aminés conservés, déjà connus pour être importants pour la fonction ATP, et ont donc proposé qu'ils constituent les sites de fixation de l'ATP. Cependant, puisque la structure a été résolue sans ATP, la localisation des sites de l'ATP restait incertaine. Nous avons localisé les sites de liaison d'ATP par la création de liaisons covalentes entre un dérivé d'ATP réactif des thiols (NCS-ATP), synthétisé au laboratoire et des mutants cystéine insérés autour des cavités proposées comme site de fixation de l'ATP. Nous avons observé que le NCS-ATP se lie de façon covalente à deux positions non identifiés auparavant N140 et L186. Ces résidus sont positionnés sur deux sous-unités adjacentes et séparées par environ 18 Å dans un modèle du récepteur P2X2 obtenu par modélisation comparative, suggérant l'existence d'au au moins deux modes de liaison. Nos résultats ont ainsi permis de positionner précisément l'ATP sur le récepteur P2X (Figure 13).

[Jiang R, Lemoine D, Martz A, Taly A, Gonin S, Prado de Carvalho L, Specht A, Grutter T. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011, 108(22), 9066-71.]



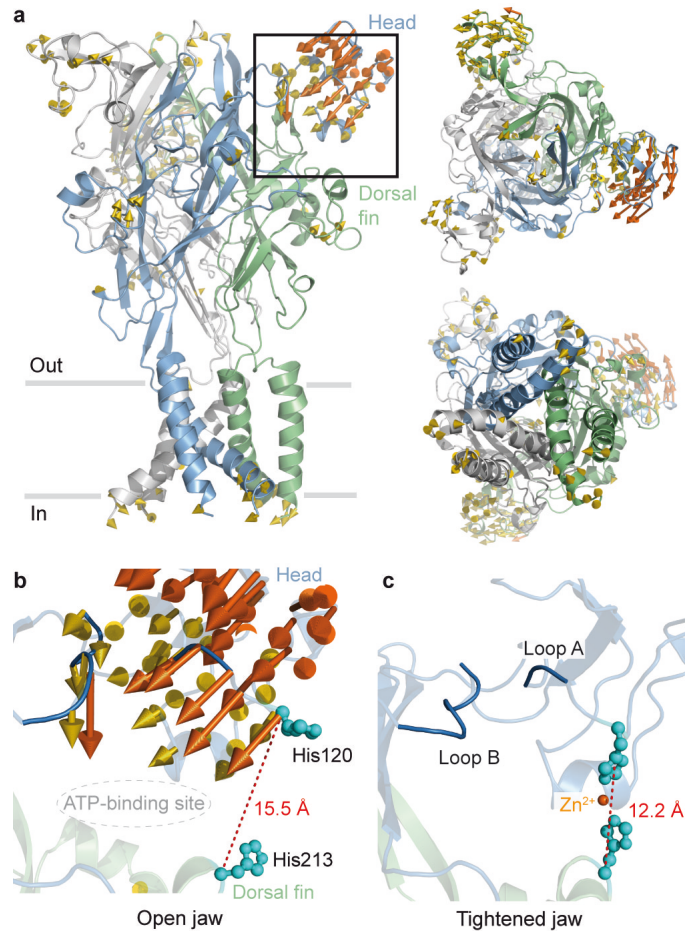
**Figure 13.** Docking de l'ATP sur un modèle du récepteur P2X2.

## II Mécanisme d'activation

Le changement conformationnel du récepteur P2X a été étudié par analyse de modes normaux. Nous avons identifié un mode normal qui amène une déformation du site de liaison de l'ATP (Figure 14). Nous avons également observé que ce mode normal est sensible à la présence de l'ATP en utilisant une méthode que nous avons développée préalablement pour étudier le récepteur nicotinique (14).

Le modèle obtenu permet de réaliser des prédictions complémentaires (variations de distances entre résidus) qui ont été validées **expérimentalement dans le laboratoire de conception et application de molécules bioactives (CAMB, UMR 7199) par ingénierie de site(s) zinc**. Nous avons en effet pu construire un site zinc artificiel en nous basant sur les modèles issus de l'analyse de modes normaux. Ces résultats suggèrent que le changement de conformation identifié correspond au passage dans un état intermédiaire entre l'état de repos et l'état actif.

[Jiang R, Taly A, Cunrath O, Martz A, Lemoine D, Specht A & T Grutter; soumis]



**Figure 14.** Illustration d'une analyse de modes normaux sur un modèle du récepteur P2X. a) Le 4ème mode normal est représenté, chaque flèche indique la direction et l'amplitude du mouvement appliqué sur chaque atome. Gauche: vue latérale, droite-haut vue de dessus, droite-bas : vue de dessous. B) zoom de la zone du site. C) zoom de la vue du site après exploration du mode normal, montrant le rapprochement des histidines du site zinc naturel. Un site zinc artificiel à été construit entre les boucles A et B.

## Références

- (11) Surprenant A, North RA. *Annu Rev Physiol* (2009) 71: 333-359.
- (12) Nicke A, Bäumer HG, Rettinger J, Eichele A, Lambrecht G, Mutschler E, Schmalzing G. *Embo J* (1998) 17, 3016-28.
- (13) Aschrafi A, Sadtler S, Niculescu C, Rettinger J, Schmalzing G. *J Mol Biol* (2004) 342, 333-43 .
- (14) Taly A, Corring PJ, Grutter T, Prado de Carvalho L, Karplus M, Changeux JP. *P.N.A.S.* (2006) 103(45) :16965-70



## PROJET : « Modélisation des canaux ioniques activés par les ligands »

Les récepteurs-canaux ont un rôle important dans de nombreux processus physiologiques, et sont donc des cibles thérapeutiques importantes. La superfamille des canaux ioniques activés par des ligands comprends trois familles. Elles sont définies par le nombre de sous-unités qui composent un récepteur : les récepteurs-canaux pentamériques (dont le récepteur nicotinique), tétramériques (récepteurs du Kainate, du NMDA et de l'AMPA) et trimériques (récepteurs P2X de l'ATP). Les données dont nous disposons à l'heure actuelle suggèrent que le fonctionnement des différentes familles est différent rendant l'étude de chacune intéressante. Leurs similitudes permettront néanmoins de transférer les méthodes utilisées d'un sous-projet à l'autre. Le projet prévoit donc la poursuite du travail entrepris sur le nAChR et P2XR. Un nouvel axe de recherche sur le récepteur du NMDA permettra d'avoir un représentant de chacune des familles de récepteurs-canaux.

Un des challenges majeurs dans le domaine des récepteurs canaux est de comprendre les mécanismes moléculaires qui permettent l'ouverture rapide du canal ionique. En d'autres termes, comment les récepteurs couplent l'énergie de liaison du ligand à l'ouverture du canal? Pour répondre à cette question, les récepteurs-canaux étant des protéines allostériques, il faut étudier les changements de conformation et l'effet des ligands. A terme, l'objectif est d'obtenir : i) des modèles pour les différents états ; ii) une compréhension des interactions avec les ligands. Ceci nous permettra de développer une plateforme pour le criblage virtuel de ligands candidats médicaments.

### I Récepteurs P2X

Pour l'étude du récepteur P2X nous pouvons nous appuyer sur une structure obtenue dans l'état de repos. Nous avons également construit, comme décrit plus haut, un modèle d'un état intermédiaire validé dans mon équipe d'accueil précédente (UMR7199).

Nous pourrons explorer le passage de l'état de repos (intermédiaire) à l'état actif (puis désensibilisé) avec **l'analyse de modes normaux**. Les modes normaux obtenus seront **confrontés avec les données expérimentales** : ouverture du canal ionique, changement d'accessibilité au solvant de résidus d'acides aminés, changement de distance entre résidus. Ces travaux seront réalisés en collaborations avec les laboratoires des Dr Thomas Grutter et Annette Nicke (MPI Göttingen, Allemagne).

Des expériences de **docking** seront conduites sur les modèles de l'état actif et de

repos. Ces expériences seront réalisées avec l'objectif de vérifier que les agonistes et antagonistes peuvent être identifiés grâce à leur meilleure affinité pour l'état actif ou de repos respectivement.

## II Récepteurs nicotiques de l'acétycholine

Le récepteur nicotinique de l'acétylcholine fait partie de la seule famille de récepteurs-canaux pour laquelle il n'existait pas de structure d'un récepteur eukaryote jusqu'à l'été dernier ou une structure d'un récepteur du glutamate (GluR), pentamérique, de *C. elegans* a été obtenue dans un état actif. Il est donc important d'étudier les homologues bactériens et de réaliser des modèles des récepteurs eukaryotes. Nous prévoyons donc :

- une étude de la **dynamique des récepteurs bactériens**. Nous analyserons notamment la stabilité du récepteur de *Gloeobacter violaceus* dont la structure a été résolue dans l'état actif. L'état de protonation des résidus titrables est étudié puisque ce récepteur-canal est activé par une variation pH (15). Ce travail est effectué en collaboration avec les Dr Marc Baaden (IBPC) et Pierre-Jean Corringer (Institut Pasteur).

- de réaliser, en utilisant les structures des homologues bactériens et celle du GluR, des modèles eukaryotes ( $\alpha 4\beta 2$ ) dans les états de repos et actif. Ces modèles seront utilisés pour analyser le **mécanisme moléculaire permettant de passer de l'état de repos à l'état actif**. Ce travail est effectué en collaboration avec le Dr Marco Cecchini (ISIS, Strasbourg).

- d'analyser la **fixation des agonistes et antagonistes compétitifs**. Nous utiliserons, l'AchBP qui est un homologue du domaine de fixation des ligands. Nous avons montré qu'il est possible de discriminer les agonistes des antagonistes dans des expériences de docking en collaboration avec le Professeur Delphine Joseph (Chatenay Malabry) et le Dr Thérèse Malliavin (Institut Pasteur)(16). Cette étude sera étendue aux modèles du nAChR de type  $\alpha 4\beta 2$ .

## III Récepteurs du NMDA

Il existe une structure de l'état repos du récepteur AMPA. Cette structure est utilisée pour construire, en collaboration avec le Dr Pierre Paoletti (ENS, Paris), un **modèle de l'état de repos du récepteur NMDA**. D'autre part, il existe de nombreuses structures du domaine de fixation des ligands, obtenues en présence d'agoniste ou d'antagoniste. Nous prévoyons de **modéliser l'état actif** du récepteur NMDA en utilisant les structures du domaine de fixation des ligands pour diriger une analyse de modes normaux selon une méthode en cours de développement en collaboration avec le Dr Marco Cecchini (ISIS, Strasbourg).

#### IV Base de données des toxines agissant sur les canaux activés par des ligands

Un des objectifs de ce projet est de réaliser sur les différents récepteurs-canaux des expériences de docking et de criblage virtuel. Ceci nécessite des ligands de référence permettant de tester la capacité prédictive des modèles. Les nombreuses toxines qui se fixent sur les canaux activés par des ligands constituent une source fiable et peu sujette aux biais, en terme d'espace chimique couvert (Figure 15)(17). Nous projetons donc, en collaboration avec le Dr Adak Nasiripoudori (Institute for Advanced Studies in Basic Sciences IASBS, Zanjan, Iran) de construire une base de donnée des toxines visant les canaux activés par des ligands.

Cette base de donnée pourra être utilisée pour **calibrer des expériences de docking** ou de criblage virtuel, ainsi que pour élucider le rôle des ligands dans le fonctionnement de récepteurs-canaux.

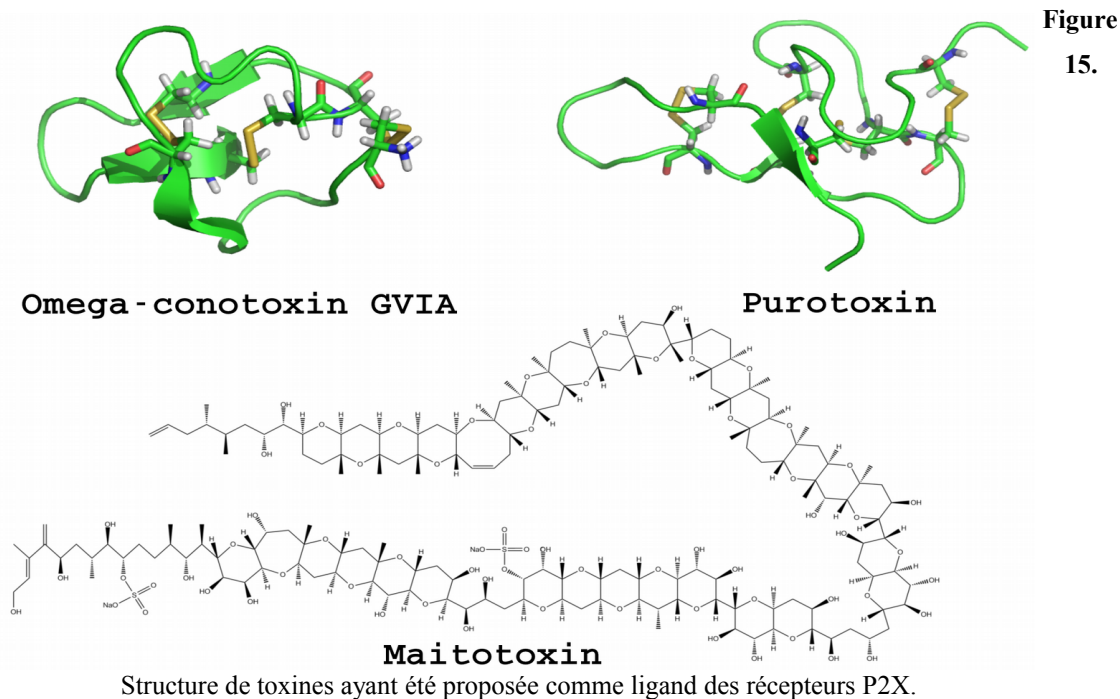


Figure 15.

#### Références

- (15) Bocquet N, Nury H, Baaden M, Le Poupon C, Changeux JP, Delarue M, Corringer PJ. *Nature* 445(7123):116-9.
- (16) Taly A, Colas C, Malliavin T, Blondel A, Nilges M, Corringer PJ, Joseph D. *J Mol Graph Model*. 2011 in press
- (17) Nasiripourdori A, Taly V, Grutter T and Taly A. *Toxins* 2011, 3(3), 260-293.

## ACTIVITES D'ENSEIGNEMENT

### **Années 2000-2002 (Heidelberg-Mannheim)**

Travaux dirigés de « **Biocomputing** » (**bioinformatique structurale**) à l'université de Heidelberg (en anglais) pour des étudiants en premier cycle universitaire (2 fois une semaine) et dans le cadre d'un cycle de formation continue (Akademie für Weiterbildung, Mannheim 2 jours). Ces enseignements couvraient les notions principales utilisées en modélisation moléculaire (champs de force, minimisation, dynamique moléculaire, analyse de modes normaux).

### **Année 2002-2003 (Créteil)**

Cours de « **post génomique** » (3 h) en maîtrise à l'IUP « Sécurité des aliments ». Ce cours constitue une vue d'ensemble des domaines couverts par la post-génomique : génomique fonctionnelle (analyse des transcriptomes, protéomique), génomique structurale, modélisation moléculaire, étude du « métabolome ».

Travaux pratiques de **biologie moléculaire** (16 h) à l'IUT « Génie biologique ». Ce TP est construit comme une analyse de clonage : digestion enzymatique et gel d'électrophorèse.

### **Année 2003-2004 (Créteil)**

Travaux pratiques de **biologie moléculaire** (16 h) à l'IUT « Génie biologique » (identique à l'année 2002-2003).

Enseignement en licence à l'IUP « Sécurité des aliments ».

**Biologie moléculaire** : travaux dirigés (6 h) et travaux pratiques (48 h).

Les TP consistent en une extraction d'ARN, une RT-PCR puis un clonage et une transformation de *E. coli*. Les TD permettent de renforcer les notions vues en TP.

**Statistiques** : cours (12 h), travaux dirigés (12 h) et travaux pratiques (12 h).

L'enseignement est conçu pour voir les notions de statistiques utiles dans le cadre des procédures de qualités : cartes de contrôle, test d'hypothèses (chi<sup>2</sup>, Student, ANOVA), échantillonnages.

### **Année 2004-2005 (Créteil, Paris, Suisse)**

Enseignement de **statistiques** à l'IUP « Sécurité des aliments » (Créteil) : cours (12 h),

travaux dirigés (12 h) et travaux pratiques (12 h). identique à l'année 2003-2004.

Cours de **statistiques** dans le cadre du cours "Développement et plasticité du système nerveux central" (Institut Pasteur, Paris). Le cours (2 h) donne une vue d'ensemble des principaux tests d'hypothèse (chi<sup>2</sup>, student, ANOVA).

Cours "**Molecular modeling theory and applications**", Doctoral School in Chemistry and Chemical Engineering, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (Suisse). Vue d'ensemble (3 h) des méthodes courantes de modélisation moléculaire : modélisation par homologie, dynamique moléculaire, analyse de modes normaux et docking.

### **Année 2006-2007 (Strasbourg)**

Cours (2h) et travaux dirigés (2h) de **modélisation moléculaire**, UE « Ingénierie des Protéines à visée thérapeutique » du Master Biologie Moléculaire et Structurale et du Master Chimie et Biologie (Université Louis Pasteur, Strasbourg). Ces enseignements donnent une vue d'ensemble des méthodes courantes de modélisation moléculaire : modélisation par homologie, dynamique moléculaire, analyse de modes normaux et docking. Les travaux dirigés sont réalisés sous forme d'analyse d'articles.

### **Année 2007-2008 (Strasbourg)**

Cours (2h) et travaux dirigés (2h) de **modélisation moléculaire** (identiques à l'année 2006-2007). UE « Ingénierie des Protéines à visée thérapeutique » du Master Biologie Moléculaire et Structurale et du Master Chimie et Biologie (Université Louis Pasteur, Strasbourg).

### **Année 2008-2009 (Strasbourg)**

Cours (2h) et travaux dirigés (2h) de **modélisation moléculaire** (identiques à l'année 2006-2007). UE « Ingénierie des Protéines à visée thérapeutique » du Master Biologie Moléculaire et Structurale et du Master Chimie et Biologie (Université Louis Pasteur, Strasbourg).

### **Année 2011-2012 (Paris)**

Responsable de l'UE « Dynamique du vivant » (55 heures) de la licence « Frontières du vivant » nouvellement mise en place.

## ACTIVITES D'ENCADREMENT

- 2001 Encadrement du stage de 3 mois d'un étudiant (Michael Strein) de l'université de Heidelberg. Modélisation de la structure de mutants ponctuels.
- 2004-2005 Encadrement du stage (1an) d'une étudiante de l'Université d'Athènes (Maria Konstantakaki, financement de l'union européenne).  
"Modélisation des interactions entre toxines et récepteur nicotinique de l'acétylcholine."  
  
Konstantakaki M, Changeux J-P and A Taly\*. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007; 359(3):413-8. "Models for the complexes between nicotinic acetylcholine receptors and alpha neurotoxins"
- 2005 Encadrement d'un étudiant du cours "informatique en biologie" de l'Institut Pasteur (Matias Saavedra).
- 2006 Encadrement d'un étudiant du cours "informatique en biologie" de l'Institut Pasteur (Issam Hmila).
- 2008-2009 Encadrement du stage (1an) d'une post-doctorante (Adak Nassiripourdori, financement du gouvernement iranien).  
"Modélisation des interactions entre toxines et récepteur nicotinique de l'acétylcholine."  
  
Nasiripourdori A, Taly V, Grutter T, Taly A\* *Toxins* 2011, 3(3), 260-293. "From Toxins Targeting Ligand Gated Ion Channels to Therapeutic Molecules"  
  
Simoes M, Nassiripourdori A, Corringer PJ, Changeux JP, Karplus M, Cecchini M and A Taly\* " $\alpha 4\beta 2$  Nicotinic Acetylcholine Receptors Resting to Active State Transition" *en préparation*
- 2008-2009 Encadrement d'un post-doctorant dans le cadre d'un contrat industriel (Dr Manuel Simoes).  
  
Simoes M, Nassiripourdori A, Corringer PJ, Changeux JP, Karplus M, Cecchini M and A Taly\* " $\alpha 4\beta 2$  Nicotinic Acetylcholine Receptors Resting to Active State Transition" *en préparation*
- 2009 Encadrement du stage volontaire d'un étudiant de licence (François Martz).

## **FINANCEMENTS OBTENUS**

J'ai tout d'abord été amené à obtenir des financements pour couvrir mon propre salaire :

- Deutscher Akademischer Austausch Dienst (Allemagne, Thèse, deux ans)
- Association Française contre les Myopathies (Post-doctorat #1, un an)
- Philipp Morris External Research Program (Post-doctorat #1, deux ans)
- Fondation pour la Recherche Médicale (Post-doctorat #2, deux ans)

J'ai également participé à la rédaction de demande de financement des laboratoires dans lesquels j'ai travaillé :

- programme d'échange Procope (Thèse)
- programmes ANR : Etude de récepteurs canaux par pontage chimique (2006-2009) et Photo-régulation of the purinergic P2X receptors : resolution of the gating stoichiometry (2011-2014).

J'ai aussi obtenu un financement auprès d'un partenaire industriel :

- contrat de recherche avec la société Servier

## PUBLICATIONS

### Articles dans des revues à comité de lecture

- Taly A\***, Colas C, Malliavin T, Blondel A, Nilges M, Corringer PJ, Joseph D.  
*J Mol Graph Model*. 2011 *in press*.  
“Discrimination of agonists versus antagonists of nicotinic ligands based on docking onto AChBP structures.”
- Jiang R, Lemoine D, Martz A, **Taly A**, Gonin S, Prado de Carvalho L, Specht A, Grutter T  
*Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011; 108(22):9066-71.  
“Agonist trapped in ATP-binding sites of the P2X2 receptor”
- Charon S, **Taly A**, Rodrigo J, Perret P, Goeldner M.  
*J Agric Food Chem*. 2011;59(7):2803-2807  
“Binding Modes of Noncompetitive GABA-Channel Blockers Revisited Using Engineered Affinity-Labeling Reactions Combined with New Docking Studies.”
- Jiang R, Martz A, Gonin S, **Taly A**, de Carvalho LP, Grutter T.  
*J Biol Chem*. 2010; 285(21):15805-15.  
“A putative extracellular salt bridge at the subunit interface contributes to the ion channel function of the ATP-gated P2X2 receptor.”
- Spichty M, **Taly A**, Hagn F, Kessler H, Barluenga S, Winssinger N, Karplus M.  
*Biophys Chem*. 2009; 143(3):111-23.  
“The HSP90 binding mode of a radicicol-like E-oxime determined by docking, binding free energy estimations, and NMR <sup>15</sup>N chemical shifts.”
- Guerlet G, **Taly A**, Prado de Carvalho L, Martz A, Jiang R, Specht A, Le Novère N, Grutter T.  
*Biochem Biophys Res Commun*. 2008; 375(3):405-9.  
“Comparative models of P2X2 receptor support inter-subunit ATP-binding sites.”
- Konstantakaki M, Changeux J-P and **A Taly\***.  
*Biochem Biophys Res Commun*. 2007; 359(3):413-8.  
“Models for the complexes between nicotinic acetylcholine receptors and alpha neurotoxins”
- Bocquet N, Prado de Carvalho L, Cartaud J, Neyton J, Le Poupon C, **Taly A**, Grutter T, Changeux J-P and P-J Corringer.  
*Nature*. 2007; 445(7123):116-9.  
"Functional identification of a prokaryotic proton-gated ion channel from the nicotinic acetylcholine receptor superfamily"
- Taly A\***, Corringer P-J, Grutter T, Prado de Carvalho L, Karplus M and JP Changeux.  
*Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Nov 7; 103 (45) 16965-70.  
“Implications of the quaternary twist allosteric model for the physiology and pathology of nicotinic acetylcholine receptors”



- Grutter T, de Carvalho LP, Dufresne V, **Taly A**, Edelstein SJ, Changeux JP.  
*Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Dec 13; 102(50):18207-12.  
 "Molecular tuning of fast gating in pentameric ligand-gated ion channels."
- Taly A**, Delarue M, Grutter T, Nilges N, Le Novère N, Corringer P-J, Changeux J-P.  
*Biophysical Journal*. 2005; 88(6):3954-65.  
 "Low frequency Normal Mode Analysis suggest a quaternary twist model for the nicotinic receptor gating mechanism"
- Grutter T, Prado de Carvalho L, Dufresne V, **Taly A**, Fischer M, and JP Changeux.  
*Comptes rendus de l'Académie des sciences*. 2005; 328(3):223-34.  
 "A chimera encoding the fusion of an acetylcholine-binding protein to an ion channel is stabilized in a state close to the desensitized form of ligand-gated ion channels."
- Pons S, Sallette J, Bourgeois JP, **Taly A**, Changeux JP, Devillers-Thierry A.  
*European Journal of Neurosciences*, 2004; 20(8):2022-30.  
 "Critical role of the C-terminal segment in the maturation and export to the cell surface of the homopentameric alpha7-5HT receptor.
- Taly A**, Sebban P, Smith JC and GM Ullmann.  
*Biophysical Journal*, 2003; 84(3):  
 "The position of Q<sub>B</sub> in the photosynthetic reaction center depends on pH: a theoretical analysis of the proton uptake upon Q<sub>B</sub> reduction"
- Taly A**, Baciou L and P Sebban.  
*FEBS letters*, 2002; 532(1-2):91-96.  
 "The DMPC lipid phase transition influences differently the first and the second electron transfer reactions in bacterial reaction centers "
- Gerencser L, **Taly A**, Baciou L, Maroti P and Sebban P.  
*Biochemistry*, 2002; 41(29):9132-8.  
 "The effect of binding of Cd<sup>2+</sup> on Bacterial Reaction Center mutants: proton transfer uses interdependent pathways"

## Autres articles

- Taly A\***, Charon S  
*Current Drug Targets in press*  
 "α7 Nicotinic Acetylcholine Receptors: A Therapeutic Target In The Structure Era  
 "
- Nasiripourdori A, Taly V, Grutter T, **Taly A\***  
*Toxins* 2011, 3(3), 260-293.  
 "From Toxins Targeting Ligand Gated Ion Channels to Therapeutic Molecules"
- Taly A**, Corringer PJ, Guedin D, Lestage P, Changeux JP.  
*Nat Rev Drug Discov*. 2009; 8(9):733-50.  
 "Nicotinic receptors: allosteric transitions and therapeutic targets in the nervous system."

**Taly A**, Changeux JP.

*Ann N Y Acad Sci.* 2008; 1132:42-52.

“Functional organization and conformational dynamics of the nicotinic receptor: a plausible structural interpretation of myasthenic mutations.”

Changeux JP, **Taly A**.

*Trends Mol Med.* 2008; 14(3):93-102.

“Nicotinic receptors, allosteric proteins and medicine.”

**Taly A\***

*Eur Biophys J.* 2007; 36(8):911-8.

“Opened by a twist: a gating mechanism for the nicotinic acetylcholine receptor.”

Smith JC, Cournia Z, **Taly A**, Tournier AL, Mihailescu D and GM Ullmann.

*In: Novel Approaches to the Structure and Dynamics of Liquids: Experiments, Theories and Simulations. Eds. J. Samios, V.A.Durov, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht: 485-502, 2004.*

"Conformational Transitions in Proteins and Membranes"

## ACTIVITES COLLECTIVES

### **Activités Internationales et Nationales**

Responsable d'une UE de biologie de la licence "Frontières du vivant" (Paris Descartes; 2011-).

Membre du comité de sélection chaire d'excellence MCF-1555 (2011).

Editorial board : ISRN Biophysics

Reviewer: J. med. Chem., PNAS, Pharmaceuticals, African Journal of Pharmacy and Pharmacology, Current Neuropharmacology.

Trésorier du Groupe de Graphisme et Modélisation Moléculaire (2011-)

### **Activités Locales**

Laboratoire de chimie physique (Orsay, DEA Thèse)

Mise en place et entretien du matériel scientifique nouveau (hotte à flux laminaires, agitateur orbital, sonicateur, pH mètre, colonnes de chromatographie).

Laboratoire « computational molecular biophysics » (Thèse)

Organisation de la retraite/séminaire annuel (logistique, comptabilité).

Laboratoire « récepteurs et cognition » (Post-doctorat)

Gestion du parc des PC (Linux/Windows) et des imprimantes.

Mise à jour du site internet du laboratoire.

Laboratoire « Chimie biophysique » (post doctorat)

Gestion du parc des imprimantes.

Organisation des séminaires du laboratoire.

Laboratoire « BioPhysicoChimie des Récepteurs canaux » (CR2)

Mise à jour du site internet du laboratoire.

Responsable informatique.

## **RESUME SUR L'ORIGINALITE DES RESEARCHES**

Mes recherches peuvent se caractériser par un travail centré sur des **protéines membranaires** et à l'**interface modélisation/expérience** construite au cours de mon parcours.

J'ai étudié pendant ma thèse des transferts d'électrons et de protons dans le centre photosynthétique de *Rhodobacter sphaeroides* (bactérie pourpre) grâce à des **travaux expérimentaux et de modélisation**.

J'ai effectué un premier post-doctorat à l'institut Pasteur. Mes travaux ont porté sur l'étude de la structure et des transitions conformationnelles du récepteur nicotinique de l'acétylcholine (nAChR). J'ai réalisé des **travaux entièrement théoriques et en relation avec des travaux expérimentaux** du laboratoire.

Depuis mon intégration au CNRS j'ai initié un travail sur une autre famille de récepteur canaux (récepteur P2X de l'ATP) en **étroite relation avec les expérimentateurs** du laboratoire d'accueil à Illkirch.

Le passage par plusieurs laboratoires a notamment permis de créer un réseau de **collaborations solides avec des expérimentateurs** ce qui me semble essentiel pour la poursuite du projet.

## FICHE SYNTHETIQUE

<b>Nom Prénom coordonnées</b>	<p><b>Taly Antoine</b>          Laboratoire de Biochimie Théorique - UPR 9080          Institut de Biologie Physico-Chimique          13 rue Pierre et Marie Curie,          75005 PARIS - France.          01 58 41 51 66          taly@ibpc.fr</p>
<b>Date de naissance</b>	<b>22 août 1975</b>
<b>Formation initiale</b>	<p>1993. <b>Baccalauréat série D (biologie). Mention Assez-Bien.</b></p> <p>1993-95. <b>Médecine première année.</b> Equivalence première année de DEUG.</p> <p>1995-96. <b>DEUG « Sciences de la nature et de la vie » Mention Assez-Bien.</b> deuxième année. <b>Université Paris-XII (Créteil).</b></p> <p>1996-97. <b>Licence "Biologie Cellulaire et Physiologie". Université Paris-XII (Créteil).</b></p> <p>1997-98. <b>Maîtrise "Biologie Cellulaire et Physiologie". Mention Assez-Bien.</b>          Université Paris-XII (Créteil). Année de maîtrise effectuée dans l'<b>université de Sherbrooke (Québec)</b> section « <b>biotechnologies</b> » dans le cadre d'un échange universitaire (convention CREPUQ).</p> <p>1998-99. <b>DEA "Structure, fonction et ingénierie des protéines". Mention Assez-Bien.</b> Université Paris-XI (Orsay).</p>
<b>Thèse</b>	<p><b>Durée et soutenance :</b> 1999-2003. Soutenance le 4 avril 2003.  <b>Financement :</b> DAAD (ministère allemand).  <b>Lieu :</b> cotutelle universités Paris XI à Orsay / Heidelberg (Allemagne).  <b>Directeur de thèse :</b> Professeurs Pierre Sebban (Orsay) et Jeremy C. Smith (Heidelberg).  <b>Titre :</b> "Transferts couplés d'électrons et de protons dans le centre réactionnel photosynthétique de <i>Rhodobacter sphaeroides</i>: études expérimentales et par modélisation moléculaire".  <b>Techniques :</b> purification des protéines, spectroscopie de changement d'absorption, modélisation moléculaire.</p>
<b>Mobilité</b>  Post-doctorat 1	<p>06/2003-08/2006          Laboratoire du professeur Jean-Pierre Changeux à l'institut Pasteur          Modélisation de la structure et des relations structure/fonction du récepteur nicotinique de l'acétylcholine.</p>
Post-doctorat 2	<p>09/2006-09/2009          Laboratoire du professeur Martin Karplus à Strasbourg.</p>

	Modélisation de la structure et des relations structure/ fonction du récepteur nicotinique de l'acétylcholine.
<b>Situation actuelle</b>	Chargé de recherche au CNRS
<b>Publications</b>	16 publications originales (5 en tant que premier auteur et une en tant que dernier auteur). 7 articles de revues/chapitres de livres.
<b>Enseignement</b>	<b>Statistiques:</b> Licence : Cours (24 h), TD (24 h) et TP (28 h); Master: Cours (2 h). <b>Biologie Moléculaire:</b> Licence: TD (6 h) et TP (48 h); IUT, TP (32 h). <b>Post-génomique:</b> Maîtrise : cours (3 h). <b>Bioinformatique:</b> formation continue : TP (2 jours); Licence : TP (2 semaines); Master : cours (7 h) et TD (4 h). <b>Biologie :</b> Licence : cours (10 h) et TD (4h).
<b>Divers</b>  Responsabilités collectives	<b>Nationales et Internationales</b> Responsable d'une UE de biologie de la licence "Frontières du vivant" (Paris Descartes; 2011-). Membre du comité de sélection chaire d'excellence MCF-1555 (2011). Editorial board : ISRN Biophysics Reviewer: J. Med. Chem., PNAS, Pharmaceuticals, African Journal of Pharmacy and Pharmacology, Current Neuropharmacology. Trésorier du Groupe de Graphisme et Modélisation Moléculaire (2011-)  <b>Locales</b> Orsay: Mise en place et entretien du matériel scientifique nouveau (hotte à flux laminaires, agitateur orbital, sonicateur, pH mètre, colonnes de chromatographie). Heidelberg: Organisation de la retraite/séminaire annuel. Institut Pasteur: Responsable du site web et de la maintenance des ordinateurs de l'unité. Strasbourg: Gestion du parc des imprimantes; organisation des séminaires.