

21

BIOMOLÉCULES : RELATIONS STRUCTURE-FONCTION

Mireille BRUSCHI
Présidente

François Andre
Mireille Boyer
Marie-France Carlier-Pantaloni
Jacqueline Cherfils
Alain-Jean Cozzone
Françoise Culard
Muriel Delepierre
Alain Desbois
Patrick England
Robert Fuchs
Jean-Marc Laval
Dominique Legrand
Franc Pattus
Catherine Royer
Jean-Louis Schmitt
Mathias Springer
Franck Talmont
Annette Tardieu
Patrick Tauc
Éric Westhof

1 – BILAN/CONJONCTURE

1.1 LES CHAMPS DISCIPLINAIRES DE LA SECTION

L'objectif majeur de la section 21 est de comprendre les bases moléculaires et structurales des fonctions biologiques par des approches pluridisciplinaires aux interfaces avec la physique, la chimie et l'informatique.

Les projets de recherche abordés font intervenir plusieurs types d'approches, simultanément ou successivement :

- a) identification et étude biochimique des molécules et des systèmes moléculaires ;
- b) caractérisation physico-chimique et structurale des objets moléculaires ;
- c) analyse des interactions inter-moléculaires : dimensions spatiale, énergétique et thermodynamique ;
- d) analyse des interactions inter-moléculaires : dimensions dynamique, cinétique et catalytique ;
- e) ingénierie des macromolécules biologiques ;
- f) étude de l'intégration des systèmes moléculaires.

Tout en continuant à soutenir activement ses sensibilités « traditionnelles », telles que la transcription/traduction du programme génétique, les métabolismes microbiens et l'enzymologie fondamentale, la section a recentré fortement ses centres d'intérêt au cours des dernières années, notamment afin de jouer un rôle actif dans les domaines de la génomique structurale, la protéomique et la bioinformatique.

Le caractère très général des préoccupations conceptuelles et expérimentales de la section fait qu'elle constitue un dénominateur commun à la plupart des domaines de la biologie et qu'elle se situe à un véritable carrefour entre de nombreuses disciplines scientifiques. Loin de se développer de manière gratuite et théorique, elle contribue à créer des outils et modèles qui permettent, d'une part, aux autres disciplines de progresser dans leur propre domaine et, d'autre part, d'agir rationnellement sur les systèmes vivants de manière conforme aux objectifs d'intérêt général d'ordres économique, social, médical, agricole et environnemental.

1.2 LES LABORATOIRES, LES CHERCHEURS ET LES ITA

Répartition des chercheurs CNRS, relevant de la section 21, par départements scientifiques : SDV=314, SPM=2, SPI=3, SC=17, STIC=2, Total = 338

Répartition des chercheurs CNRS relevant de la section 21, par types d'unités : UPR=124, UMR=153, FRE=17, ESA=2, URA=14, Hors Structures= 28, Total=338

Les structures et les personnels CNRS relevant de la section 21 sont présentés dans l'annexe 1.

1.3 POUR UNE MISE EN ŒUVRE EFFECTIVE DE L'INTERDISCIPLINARITÉ ET UN MEILLEUR DÉVELOPPEMENT DES INTERFACES

La section 21, pluridisciplinaire par nature, joue un rôle majeur à l'interface de la biologie, la chimie, la physique et l'informatique. Elle coordonne ainsi les efforts de ces disciplines qui concourent à la compréhension à l'échelle moléculaire et parfois atomique des grandes fonctions biologiques.

La pluridisciplinarité est à la base de l'interdisciplinarité, avec laquelle elle ne doit cependant pas être confondue car cette dernière requiert un véritable échange et une intégration totale entre les disciplines dépassant les frontières administratives et disciplinaires actuelles matérialisées par les départements et sections du CNRS et les commissions du CNU.

La mise en place de l'interdisciplinarité nécessite l'organisation de structures de recherche et de formation adaptées et spécifiques. La création généralisée de laboratoires-instituts, au sein desquels auraient lieu une mise en commun de moyens (équipements, plateaux techniques), serait à même de favoriser les contacts entre les équipes représentatives de différentes disciplines et l'élaboration de stratégies interdisciplinaires. Des équipes inter-laboratoire et/ou inter-département équivalentes à des GDR de petite taille, dotées de financements programmés au budget du CNRS, de postes affectés, de financements de thèses et post-docs, pourraient être créées sur une durée de 3/4 ans et évoluer vers des structures pérennes en cas de succès.

Les programmes interdisciplinaires devraient faire l'objet d'une évaluation à trois niveaux consistant, dans un premier temps, à évaluer leur adéquation avec la stratégie générale du CNRS. Le deuxième niveau consisterait à évaluer la capacité du directeur de programme à définir les questions scientifiques pertinentes et à y répondre par un pouvoir de mobilisation durable des communautés scientifiques

concernées. Le troisième niveau serait une évaluation sous forme d'audit, permettant un regard extérieur sur la conduite et les résultats du programme, sans se restreindre à ses résultats strictement scientifiques.

L'interdisciplinarité non seulement impliquera, mais émanera des chercheurs qui engendreront des projets audacieux et attireront les candidats motivés et talentueux pour leur donner corps. Une attention particulière devra être apportée à la formation interdisciplinaire des jeunes chercheurs qui, dans chaque filière des écoles doctorales, doivent se voir proposer un choix dirigé de modules relevant d'autres champs disciplinaires. Par ailleurs, leur recrutement par le CNRS doit s'appuyer sur des projets émanant de candidats et de laboratoires d'accueil d'excellence qui sont déjà engagés ou vont s'engager résolument dans un tournant interdisciplinaire.

Enfin, les chercheurs de l'Interdisciplinarité, en particulier ceux affectés aux gros équipements (TGE), comme les synchrotrons du LURE ou de l'ESRF, doivent faire l'objet d'une évaluation tenant compte leur recherche propre et leur tâche d'accueil et d'interface. D'une manière générale, il convient de faciliter la prise de risque des chercheurs par une gestion des carrières plus dynamique et prenant en compte des critères d'évaluation plus larges.

1.4 POUR UNE AMÉLIORATION DES PARTENARIATS INSTITUTIONNELS : BILAN ACTUEL DES RELATIONS CNRS/UNIVERSITÉ

Fondamentalement, et d'une manière générale, il est essentiel, pour le CNRS et l'Université de maintenir et de renforcer leurs liens :

- dans les structures de recherche, notamment sous la forme d'UMR ;

- dans les structures de formation, sous la forme d'activités pédagogiques et d'Écoles Doctorales (ED) et ;

- dans la mobilité entre les deux institutions.

- Les UMR sont basées sur une organisation et un mode de fonctionnement de longue date qui ont largement fait la preuve de leur efficacité.

Le phasage récent entre CNRS et Université dans le cadre des plans quadriennaux a amélioré récemment leur articulation. L'Université est cependant trop « absente » des évaluations et des orientations des UMR. À l'inverse, les Instituts Fédératifs de Recherche (IFR) sont créés puis évalués par le Ministère sans concertation avec le CNRS.

- Le fossé entre « chercheurs temps-plein » et enseignants-chercheurs est toujours très (trop) marqué. Une implication plus forte des chercheurs dans l'enseignement, en 2^e cycle comme en 3^e cycle, est souhaitable. Inversement, un allègement des charges d'enseignement des enseignants faisant vraiment de la recherche, en particulier les Maîtres de Conférences, devient une priorité.

Il ne faut en effet pas oublier que le recrutement est souvent circonstanciel entre CNRS et Université, les candidats se présentant souvent simultanément aux 2 concours.

La mise en place des ED, soit thématiques, soit de site, s'est faite, et continue à se faire, sans une concertation réelle avec le CNRS. La seule référence à l'organisme réside dans la prise en compte du label « CNRS » (ou INSERM, ou INRA) pour s'assurer de la qualité des équipes d'accueil de doctorants. De même, la mise en place du nouveau découpage des études en Licence-Master-Doctorat (LMD) se fait actuellement sans concertation avec les organismes de recherche.

- La mobilité temporaire des enseignants-chercheurs (pour 1, 2 ou 3 ans) vers le CNRS s'est nettement améliorée au cours des dernières années, sous la forme de détachements et de délégations qui sont accordés en nombre régulièrement croissant. Par contre, le flux des chercheurs vers l'enseignement supérieur fonctionne peu ou pas du tout. En particulier, la transition des DR2 (ou des CR1

seniors) vers un poste de Professeur n'est pas attractive, surtout quand on considère la lourdeur des charges administratives des enseignants. À cet égard, on peut regretter aussi la faible représentation des chercheurs dans les différentes instances universitaires (Conseils, Commissions, etc.)

D'une manière plus large, notre communauté souffre de plus en plus d'une forte désaffection des étudiants vis-à-vis des métiers de la recherche. Le vivier principal pour le recrutement des chercheurs étant situé à l'Université parmi les étudiants (docteurs et post-docteurs), il y a là un vrai problème de resensibilisation dont dépend l'avenir de la recherche, publique et privée, au niveau national.

1.5 POUR UNE MEILLEURE VALORISATION DE LA RECHERCHE

La valorisation de la recherche, dans laquelle de nombreuses unités rattachées à la section 21 sont fortement impliquées, peut prendre trois formes majeures :

- la prise de brevet ;
- le transfert de technologie ;
- la création d'entreprise.

En ce qui concerne la prise de brevet, des progrès considérables ont été faits, aussi bien au niveau de la mentalité des chercheurs, que du soutien aux chercheurs par les différentes instances régionales et nationales du CNRS. Les programmes de sensibilisation organisés par la DAE et les responsables de la valorisation au CNRS doivent être poursuivis. La professionnalisation des responsables régionaux devrait être améliorée et les procédures accélérées.

Le transfert de technologie devrait être la voie royale de la valorisation de la recherche fondamentale des laboratoires. En effet, les retombées de la recherche fondamentale sont rarement directement valorisables. La DAE du CNRS et l'ANVAR ont développé des aides

adaptées (ingénieurs valorisation et financement) mais les moyens sont insuffisants. Il est important que l'information soit mieux diffusée dans les laboratoires.

Il convient de rappeler aussi que la mission première du CNRS est la recherche fondamentale et que, donc, la création d'entreprise ne devrait qu'être que l'exception. L'ensemble du processus de création est compliqué par la faiblesse des moyens mis en œuvre, les obstacles administratifs et légaux qui persistent et les difficultés des fonds d'amorçage. En biotechnologie et dans le domaine pharmaceutique, les fonds nécessaires et les délais de rentabilité des projets sont tels que de nombreuses start-ups créées ces dernières années risquent de faire faillite prochainement par manque d'une politique globale ambitieuse de soutien et de financement.

2 – PROSPECTIVE SCIENTIFIQUE DANS LES CHAMPS DISCIPLINAIRES DE LA SECTION

2.1 LES AVANCÉES DE LA BIOLOGIE STRUCTURALE

La connaissance de la structure des macromolécules, de leurs interactions et associations statiques et dynamiques, est au cœur de la compréhension du fonctionnement du vivant. Les principales techniques mises en œuvre ont connu des développements considérables au cours des dernières années et se sont diversifiées : diffraction des rayons X, résonance magnétique nucléaire (RMN), microscopie électronique, diffusion des rayons X (ou des neutrons) en solution, spectrométrie de masse, spectroscopie d'absorption résolue en temps, imagerie, simulations

de la dynamique moléculaire et modélisation par ordinateur. Un des grands enjeux étant de caractériser des objets moléculaires de complexité de plus en plus grande, les différentes spécialités de la biologie structurale sont amenées à coordonner de plus en plus leurs démarches, afin de comprendre ensemble ce qu'une approche prise isolément ne saurait faire (tous acteurs des sciences du vivant).

Une photographie de la biologie structurale à haute résolution en France

Celle-ci se porte très bien, comme en témoigne une « enquête » menée auprès de l'ensemble de la communauté des bio-cristallographes en 2001 (origine : groupe d'utilisateurs qui a rédigé l'avant-projet sommaire des lignes de bio-cristallographie auprès du synchrotron Soleil) qui a fait ressortir un nombre remarquable de publications de très haut niveau sur l'ensemble des laboratoires, la plupart relevant du CNRS. On peut aussi se féliciter de l'excellente implantation de spectromètres RMN très puissants qui, associée à l'installation des cryosondes, permettent aux spectroscopistes de travailler plus vite et avec une sensibilité accrue. Tous ces développements techniques associés aux développements méthodologiques de ces dernières années, notamment avec l'utilisation des couplages polaires résiduels mais aussi des interférences constructives de divers phénomènes de relaxation (effet TROSY), ont permis l'étude de molécules de taille beaucoup plus importante. Ces approches ont été couronnées récemment par l'attribution du prix Nobel de chimie à Kurt Wüthrich. La communauté de RMN biologique devra poursuivre l'effort de dialogue avec les communautés de biologistes afin d'exploiter pleinement ses ressources, mais aussi avec la communauté des cristallographes pour exploiter au mieux la complémentarité de ces deux techniques. En effet, la complémentarité et la synergie entre RMN et RX sont indispensables lorsque les molécules sont très flexibles et qu'elles ne cristallisent pas. De plus, le séquençage de génomes entiers nous indique qu'un grand nombre de protéines ne

sont pas complètement repliées, voire pas du tout, et n'acquièrent leur structure qu'en présence de leur cible. Dans ces conditions, la RMN apparaît comme le seul outil capable d'extraire des informations sur l'état conformationnel de ces molécules.

Biologie structurale à haute et basse résolution : une combinaison gagnante

Si la description d'une structure à l'échelle atomique fournit en elle-même une moisson d'informations, un grand enjeu actuel de la biologie structurale est de l'envisager au sein d'assemblages multimoléculaires complexes. La combinaison de la description d'assemblages complexes à basse résolution avec une description atomique de leurs composants permet ainsi d'approcher une interprétation structurale de ces assemblages à haute résolution. Cette combinaison promet d'être particulièrement féconde avec la cryo-microscopie électronique et la diffusion des rayons X aux petits angles (DXPA). La première, en combinant enveloppes à basse résolution et structures atomiques des composants, permet de s'approcher de modèles à haute résolution des assemblages. Des progrès sont encore attendus avec les microscopes équipés de canons à émission de champ. Les études par DXPA ont, elles aussi, complètement changées de visage, en particulier grâce au rayonnement synchrotron. Le développement de programmes *ab initio* donne maintenant accès à l'enveloppe des macromolécules en solution, et cela quelle que soit leur taille. Cette approche permet donc aussi de proposer des modèles d'association de complexes dont la structure atomique des éléments est connue et d'établir de nouveaux liens entre propriétés structurales microscopiques et comportement fonctionnel macroscopique. Les études par DXPA ouvrent notamment la voie *in vitro* à la prédiction rationnelle des conditions de cristallisation (y compris pour les protéines membranaires) et *in vivo* à la compréhension des propriétés du milieu intracellulaire.

Ces approches bénéficient d'une communauté très active en France, dont il sera important de renforcer de plus en plus la coordination avec la cristallographie et la RMN, ainsi que l'intégration au sein des divers champs de la biologie.

De la biologie structurale à la cellule et l'organisme : un défi interdisciplinaire à relever

Les réponses de la cellule à son environnement et à ses signaux mettent en jeu des cascades d'interactions qui assemblent et modifient des complexes de macromolécules. De ce fait, un enjeu actuel de la biologie structurale est d'établir la relation entre la structure atomique d'une macromolécule, les interactions qu'elle peut établir et ses effets dans la cellule. Un exemple particulièrement frappant nous est fourni par l'imagerie par microscopie de fluorescence. Cette approche est, depuis de nombreuses années, un outil classique en biologie pour l'examen détaillé des cellules vivantes ou fixées. Récemment, les développements des détecteurs numériques vidéo ont rendu possible l'imagerie au niveau subcellulaire en mesurant, entre autres, la distribution de composants cellulaires spécifiques, la concentration locale d'ions cytoplasmiques, la dynamique de la formation de microstructures et les interactions entre constituants. Le développement de nombreux fluorophores chimiques et biologiques (green fluorescent proteins) permet de les attacher à des sites cellulaires spécifiques.

Pour que les biologistes cellulaires tirent le meilleur profit des résultats structuraux, il faut que les structuralistes s'imprègnent de la culture des biologistes cellulaires et, réciproquement, que les biologistes cellulaires soient préparés à intégrer cette nouvelle dimension à leur approche. Ces allers-retours ne sont néanmoins pas toujours pleinement effectifs dans nos laboratoires. De cette intégration découle le choix pertinent des cibles pour les études structurales, et la place de ces études dans la compétition internationale. Ainsi, ces cibles

peuvent être identifiées de façon très pointue au sein de nos réseaux d'excellence où elles feront l'objet d'études en parfaite synergie. Le cas des protéines membranaires, d'une difficulté particulière, est illustré ci-dessous dans le paragraphe « Bases moléculaires et structurales de la transduction du signal ».

Dans le cadre de l'accélération de la résolution de nouvelles structures (génomique structurale et approches apparentées, voir ci-dessous), l'intégration de la biologie structurale avec les autres acteurs du vivant semble seule garante de la valorisation des résultats obtenus, quels que soient les champs d'investigation futurs. En conséquence, il serait dangereux d'exclure cette interface des champs de l'interdisciplinarité.

Impact de la génomique et de la protéomique dans le domaine de la biologie structurale

Le séquençage des génomes a eu un formidable impact, mettant, avec l'aide de la bio-informatique, des outils complètement nouveaux entre les mains des structuralistes et modifiant ainsi la construction de leur démarche scientifique. Rebondissant sur ces nouvelles données, la protéomique commence à révéler à son tour des assemblages macromoléculaires d'une complexité croissante. La biologie structurale doit exploiter cette richesse d'informations, dont la traduction la plus immédiate est la « génomique structurale » visant à résoudre des structures à haut débit dans le cadre de thématiques à priori peu ciblées. À court terme, il faudra tout mettre en œuvre pour que les avancées technologiques issues des recherches de la génomique structurale en France et à l'étranger (notamment en termes de clonage, expression, purification et cristallisation des protéines), irriguent l'ensemble de la communauté des biologistes structuraux. C'est un enjeu d'autant plus critique que cette évolution génère une compétition internationale accrue sur un nombre significatif de projets, particulièrement en cristallographie et RMN.

Interface chimie/biologie structurale/physiologie

Cette interface est, dans notre domaine, celle dont la valeur ajoutée vis-à-vis de l'industrie est la plus claire. En particulier, la biologie structurale à haute résolution des cibles thérapeutiques sert de support à la modélisation de molécules actives, notamment en santé humaine. Le récent colloque de l'ACI « Cibles thérapeutiques » a souligné la place des structures atomiques, expérimentales ou modélisées, dans une majorité des projets se situant de fait à l'interface entre chimistes et physiologistes. La structuration de cette triple interface, à laquelle se superpose celle de l'interface entre recherche académique et industrie, est un chantier en pleine mutation. De façon immédiate, on voit l'importance de développer des laboratoires de modélisation à l'interface protéine/chimie, et d'autre part, d'améliorer la reconnaissance des chimistes s'impliquant dans la demande particulière de la biologie, nécessaire pour motiver leur engagement.

Le synchrotron Soleil

La biologie structurale est donc mise au défi d'aborder des questions dont la complexité est de plus en plus grande, et le projet de synchrotron Soleil constitue une chance exceptionnelle de développer les technologies de dernière génération qui vont permettre d'aborder ces problèmes. La communauté de biologie structurale s'est fortement mobilisée derrière ce projet : par exemple en cristallographie biologique, les avant-projets ont été définis par l'ensemble de la communauté des cristallographes français, qui ont recherché la meilleure adéquation entre les besoins les plus exigeants et les meilleures avancées technologiques. La ligne de diffusion des rayons X sera à la fois « petits angles » et « grands angles » et fera partie de la première série de lignes construites. Cette ligne est un très bon exemple d'interdisciplinarité puisque trois communautés sont partie prenante : sciences des matériaux, matière molle et biophysique. Une excellente

concertation a permis de définir les performances souhaitées. Un effort particulier sera fait sur la souplesse d'utilisation et les environnements d'échantillons.

Un enjeu important sera de mobiliser l'ensemble de la communauté scientifique vers les possibilités qui seront offertes par ce grand instrument. Les biologistes structuraux, qui en seront les principaux utilisateurs directs, ont de ce fait une mission particulière de trait-d'union vers la communauté des biologistes, avec qui les objets d'étude seront définis et dont l'expertise est indispensable pour aborder des problèmes difficiles. Par ailleurs, les synchrotrons sont le lieu de nombreuses innovations technologiques, par exemple dans le domaine des automatisations qui atteignent actuellement un degré sans précédent, et vont progressivement éliminer les étapes inutilement laborieuses : c'est un enjeu soutenu par le 6^e PCRD dont le CNRS doit être partenaire.

2.2 ASSEMBLAGES, INTERACTIONS ET DYNAMIQUE MOLÉCULAIRE

Dynamique des bio-molécules et des assemblages bio-moléculaires

Les quelques dernières années ont été marquées par d'importantes avancées dans la caractérisation structurale des grands assemblages macromoléculaires par cryomicroscopie électronique et diffraction des rayons X : machinerie de la transcription et de la traduction (notamment ribosome), complexes multi-enzymatiques (protéasome, cellulosome) et virus. L'intérêt s'étend maintenant au-delà de la compréhension de l'architecture fonctionnelle de ces structures supra-moléculaires, vers l'étude des interactions entre leurs différents composants, de leur processus d'assemblage, et de leurs mécanismes de régulation, prioritairement par des méthodes résolues en temps. De plus en plus d'efforts sont portés vers la compréhension des aspects dynamiques des phénomènes biologiques, qu'il s'agisse

des interactions entre macromolécules, des processus catalytiques (métabolisme, polymérisations), de l'adsorption de molécules à des surfaces ou de leur incorporation à des membranes. L'échelle de temps de la dynamique moléculaire allant de la pico-seconde à plusieurs minutes suivant le processus étudié, les approches mises en œuvre afin de caractériser cette dynamique couvrent une grande gamme de compétences. De grands progrès ont été accomplis au niveau de la modélisation, de la simulation dynamique, et de la caractérisation physico-chimique (thermodynamique et cinétique) des processus d'association entre bio-molécules *in vitro* et *in vivo*, et des changements conformationnels qui leur sont associés. On peut ainsi citer les méthodes spectroscopiques telles que la relaxation en RMN, la fluorescence résolue en temps ou la diffusion des rayons X aux petits angles pour appréhender la plasticité et la flexibilité des macromolécules à l'échelle de la pico-seconde à la micro-seconde. Ces méthodes donnent également accès au polymorphisme des protéines et des assemblages macromoléculaires en solution et, plus récemment, dans des systèmes lipidiques et membranaires. Les méthodes de mélange rapide ou de saut de température ou pression, couplées à différentes techniques d'observation, permettent d'accéder à des cinétiques de changement de conformation ou d'interaction des bio-molécules allant de la microseconde à plusieurs heures. L'utilisation de plus en plus répandue de technologies telles que la résonance plasmonique de surface et la micro-calorimétrie se sont révélés déterminants, mais beaucoup reste encore à faire avant d'être en mesure de comprendre et prédire précisément les sites d'ancrage et les mécanismes d'interaction moléculaire, et de pouvoir modifier les caractéristiques de ces interactions à volonté.

Nano-biologie

Grâce à des avancées importantes (instrumentation, préparation des échantillons et acquisition des données et images), les nouvelles techniques d'études des molécules

et complexes biologiques isolées (la spectroscopie de fluctuation de fluorescence, la réflexion interne totale, les pinces optiques et la microscopie à force atomique) donnent accès à des études de repliement des molécules uniques, d'assemblage des complexes individuels solubles ou membranaires, de dynamique des moteurs moléculaires et des enzymes individuels en action. Par exemple, ces approches ont été appliquées à des études de la transcription par l'ARN polymérase, du débobinage de l'ADN par des hélicases, du repliement des protéines, des interactions dynamiques du cytosquelette et du protéasome, et de la catalyse par des enzymes immobilisées. Certaines de ces mesures peuvent même être accomplies *in vivo*. Un des grands avantages des études sur les molécules isolées est de permettre d'appréhender non seulement la moyenne de leur comportement, mais aussi leur degré d'hétérogénéité.

Il existe en France plusieurs groupes qui travaillent dans le domaine de la structure et dynamique des molécules isolées (nanobiologie) et plus largement dans l'étude des assemblages supra-moléculaires. Toutefois, les résultats les plus retentissants ne sont pas le fait des laboratoires français. Des appels d'offres du CNRS et du Ministère de la Recherche et de la Technologie ont permis de limiter le retard de ces équipes au niveau de leur équipement. Il est évident que des progrès dans ce domaine dépendront en grande partie de synergies étroites entre des chercheurs de différents domaines (biologie, biochimie, chimie, biophysique et physique) et qu'il ne faudrait en exclure aucun champ disciplinaire.

2.3 APPROCHES POST GÉNOMIQUES

Les acides nucléiques

Un bon nombre de laboratoires de la section 21 étudient la stabilité et la dynamique des génomes, leur réplication, leur réparation et la recombinaison. D'autres

abordent les mécanismes de la transcription de l'ADN en ARN. La spécificité des laboratoires de la section 21 par rapport à la 23, qui traite ces mêmes problématiques, est l'approche pluridisciplinaire employée faisant appel aussi bien à la génétique moléculaire qu'à la biochimie, l'enzymologie, la biologie structurale et la biophysique.

Plusieurs laboratoires de la section 21 ont acquis une renommée internationale pour l'étude des ARN dans la traduction et sa régulation, dans l'épissage des ARN pré-messagers (les petits ARN nucléaires ou snRNA), dans la maturation des ARN ribosomiques (les petits ARN nucléolaires ou snoRNA) et dans la dégradation des ARN, les ARNm en particulier.

Dans les années 80, la découverte de l'ARN catalytique a révolutionné nos perceptions des origines de la vie et notre compréhension de l'évolution moléculaire et biologique. Ces percées conduisirent à un formidable développement des recherches sur de nombreuses molécules d'ARN, catalytiques ou non, recherches auxquelles les laboratoires de la section 21 ont activement participé. Nos connaissances et notre compréhension des structures tridimensionnelles de l'ARN, de leurs processus de repliement, d'évolution et de catalyse ont presque rejoint le niveau atteint dans le domaine des protéines. Les développements conceptuels et techniques qui s'ensuivirent ont suscité les récentes découvertes sur les ARN non codants qui bouleversent la biologie de nos jours. Ces découvertes, résumées ci-dessous, vont bien au-delà des mécanismes d'interférence d'ARN dont les applications biologiques et thérapeutiques sont incontournables.

Une recherche alliant génétique, biologie moléculaire, biochimie et bioinformatique a, en effet, permis de découvrir une foison d'ARN non-codants dont l'existence était insoupçonnée il y a seulement quelques années. Une recherche de nouveaux gènes exclusivement tournée vers les ARN messagers explique probablement qu'une classe entière de gènes ait ainsi pu échapper à toute détection. Ces ARN non-codants existent dans tous les domaines du vivant, des archées aux

eucaryotes en passant par les bactéries. Chez *E. coli*, où leur caractérisation est plus complète, une analyse bioinformatique récente prédit l'existence de presque 400 ARN non-codants, un chiffre non-négligeable par rapport aux quelques 4200 gènes « classiques » recensés auparavant. Chez les eucaryotes, les travaux initiés dans le laboratoire de Bob Horvitz, sur le nématode *C. elegans* ont permis la caractérisation, dans d'autres laboratoires, d'un nombre important (plus de 50) de petits ARN régulateurs (stRNA ou microRNA) qui interviendraient au cours de son développement. On estime que le nombre total d'ARN non-codants pourrait atteindre plusieurs milliers chez les nématodes. Des études analogues ont permis la détection d'ARN du même type chez la drosophile et chez l'homme.

Les stRNA des nématodes subissent une maturation par une nucléase (dicer) qui découpe les précurseurs en petits ARN d'une longueur de 21 à 25 nucléotides. Il se trouve que la même nucléase, ou ses homologues chez d'autres organismes, joue un rôle fondamental dans le phénomène étonnant et extrêmement utile des ARN interférants. Depuis quelques années, on sait que l'introduction d'ARN double brin chez les nématodes, les insectes, les cultures cellulaires de mammifères et les plantes, provoque une dégradation rapide des ARN messagers complémentaires. Ce phénomène a déjà permis d'entreprendre des inactivations fonctionnelles à grande échelle et représente un des grands atouts de la génomique actuelle. Or, il se trouve justement que dicer ou ses homologues est responsable du découpage des ARN injectés en fragments de 21 à 25 nucléotides. Ce résultat essentiel lie la technique ultra-puissante d'inactivation de gènes à l'aide des ARN interférants à toute une biologie, celle des stRNA, qu'il reste encore à développer.

Le plus extraordinaire, chez les ARN non codants, est la diversité des phénomènes biologiques qu'ils contrôlent. Pour ne citer que quelques exemples, l'ARN Xist intervient dans l'inactivation des chromosomes X et l'ARN de la télomérase dans la maintenance des génomes. D'autres ARN interviennent dans la transcription (chez les bactéries et les mammifères), dans

la maturation et la modification des ARN de toute sortes, dans le contrôle de la stabilité des ARNm (ARN interférants), dans la traduction (ARN régulateurs bactériens et stRNA), dans la stabilité des protéines (l'ARNm des bactéries) et dans la translocation des protéines (l'ARN de la « signal recognition particle » ou SRP).

Les propriétés étonnantes des ARN non-codants s'étendent aux régions de contrôle des ARNm placées soit en 5' soit en 3' des phases ouvertes. Le modèle de contrôle de l'expression génétique, proposé par Jacob et Monod dans les années soixante se trouve maintenant transgressé. En effet, ce modèle prévoyait que le milieu extérieur (présence d'un métabolite ou un paramètre physique particulier) ne pouvait agir sur l'expression d'un gène que par l'intermédiaire d'un régulateur qui, signalons-le au passage, pouvait être un ARN ou une protéine. Il se trouve que des découvertes récentes indiquent que les métabolites ou les paramètres physiques (la température en particulier) peuvent agir directement sur un ARN messenger sans l'aide d'un régulateur. Par exemple, certains ARNm codant les enzymes de biosynthèse de la vitamine B1 reconnaissent directement la vitamine qui change leur conformation de manière à moduler leur taux de traduction.

En conclusion, toute une catégorie de macromolécules, les ARN non-codants, ont échappé aux biologistes jusqu'ici. Il semble que ces ARN sont nombreux et interviennent dans une multitude de phénomènes biologiques aussi divers que la maintenance du matériel génétique et la régulation de l'expression génique à tous les niveaux. La période frénétique de leur détection que nous vivons à l'heure actuelle sera suivie d'une phase, plus longue mais plus gratifiante, pendant laquelle il s'agira de définir leur rôle fonctionnel et leur structure. Il est essentiel que le CNRS puisse mettre en place des structures et des moyens qui permettraient à la recherche française de se positionner face à la concurrence internationale dans ce domaine nouveau de la RNomique.

Enzymologie

La diversité biocatalytique

L'approche protéomique, allant du clonage de gènes inconnus à la traduction *in vitro* suivie de tests fonctionnels, est basée sur un concept linéaire liant unilatéralement le gène à la fonction biologique. Cette approche est nécessaire et certainement riche en informations. Elle ne permet cependant pas la découverte de nouvelles activités enzymatiques, et reste limitée pour comprendre la biocatalyse dans le contexte cellulaire et métabolique. Définir unilatéralement la fonction à partir du gène s'oppose à des évidences expérimentales montrant qu'une même fonction catalytique peut être portée par des protéines de structures primaires complètement différentes, et qui n'ont parfois même pas de similitude de structure tertiaire. Il est donc clair aujourd'hui que la **diversité de la biocatalyse** dépasse amplement la diversité génomique et structurale. On sait par exemple que le système immunitaire génère un répertoire quasi-infini à partir de quelques centaines de gènes différents. Cela peut apparaître comme une réponse biologique à la recherche d'une diversité de la biocatalyse (anticorps catalytiques) en fonction de l'environnement, et cela dépasse la diversité du génome. La présence d'anticorps catalytiques à activités protéase ou nucléase a été démontrée dans le sérum de patients atteints de certaines pathologies auto-immunes ou de patients hémophiles traités par des injections répétées de facteur VIII. Ces résultats posent le problème du rôle du système immunitaire dans le métabolisme de certaines molécules en réponse à une situation a priori non physiologique pour l'organisme. Cet exemple n'est certainement pas le seul à envisager et nous pourrions citer l'opportunité pour une même protéine d'endosser différentes activités enzymatiques en fonction de son environnement cellulaire et les implications métaboliques des ribozymes. Les combinaisons sont multiples, révélatrices d'une diversité moléculaire au sens strict qui dépasse largement celle du génome.

Les super-complexes enzymatiques

La discipline « Enzymologie » a considérablement évolué depuis 25 ans. Si les objectifs de l'enzymologie des années 70 – comme l'identification des étapes élémentaires et des complexes transitoires dans la catalyse enzymatique, ou la caractérisation des différents modes d'inhibition, etc. – ne sont plus une priorité, les méthodes d'étude de l'enzymologie (cinétique rapide en stopped flow ou quenched flow, couplée à la spectroscopie UV, spectrofluorimétrie, ou dichroïsme circulaire) sont toujours d'une grande actualité dans l'analyse de systèmes de plus en plus complexes. Au niveau de la cellule en effet, de nombreuses enzymes ne peuvent être considérées dans leurs fonctions comme des entités isolées mais font partie d'assemblages supramoléculaires au sens large tels que les super-complexes enzymatiques ou la membrane biologique. Ainsi, l'enzymologie a désormais intégré dans ses champs d'étude des objets aussi importants que :

- les machines « processives » telles que les machineries de synthèse protéique ou de recombinaison génétique ;

- les complexes multi-enzymatiques ou membranaires en milieu structuré, naturel ou biomimétique (pompes à protons, ATPases membranaires) ;

- le cycle de maturation des virus qui fait intervenir la formation ordonnée et spatialement dirigée de complexes nucléo-protéiques ;

- l'association de protéines dans des cascades de signalisation associées à la dissipation d'énergie, générant un transfert vectoriel d'information – comment des réactions consécutives, engendrées par le dépliement de protéines multi-modulaires, se produisent au sein d'échafaudages macromoléculaires ;

- la dynamique d'assemblage des polymères du cytosquelette et sa régulation par des effecteurs, dans des systèmes biomimétiques reconstitués, modulaires, présentant un degré d'intégration croissant ;

- l'enzymologie en milieu confiné où l'efficacité enzymatique est associée étroite-

ment à la notion de localisation (utilisation des nanotechnologies pour la conception du confinement).

Ces stratégies intégrées bénéficient de la possibilité récente d'observer la molécule enzymatique en tant qu'objet unique (molécule individuelle). Elles sont complémentaires d'une approche plus cellulaire du comportement des enzymes *in vivo* utilisant les méthodes optiques d'imagerie cellulaire (microscopie à deux photons, et suivi d'une molécule unique et de ses complexes avec ses cibles par spectroscopie de corrélation de fluorescence, FRET, ou temps de vie de fluorescence *in vivo*). Elles permettent de jeter les bases des études de modélisation des réseaux métaboliques.

L'enzymologie en milieu anisotrope : l'approche biomimétique

La complexité due à la taille des assemblages enzymatiques élargit les champs de l'enzymologie aux études de la **biocatalyse supramoléculaire et anisotrope**. La possibilité de reproduire artificiellement les assemblages biologiques sera un point clef de cette nouvelle enzymologie et fera appel aux différents concepts des nanotechnologies tant dans la création que dans l'étude de ces assemblages. À titre d'exemple, la création de médicaments ayant comme cibles les enzymes membranaires nécessitera de maîtriser à fin de criblage la reconstitution des protéines membranaires au sein de structures artificielles mimant la membrane biologique (biomimétisme). Cette approche biomimétique estompe la frontière fictive entre la chimie et la biologie en s'attachant plus à la structure et à la fonction de l'assemblage qu'à l'origine biologique ou non des différentes molécules le constituant.

De même, la compréhension du métabolisme ne peut provenir de la simple juxtaposition des fonctions des molécules isolées et il est nécessaire d'entreprendre une **enzymologie *in vivo*** avec le développement de suivis enzymatiques dans la cellule (par exemple par RMN) et une modélisation des flux métaboliques dans la cellule.

Ces différentes perspectives replacent l'enzymologie comme **discipline d'interfaces** dans un cadre qui échappe à la biologie traditionnelle, puisque l'enzymologie intègre désormais des concepts étendus qui nécessitent l'implication de :

- i) la chimie pour la compréhension intime des phénomènes de catalyse, la biométrie, et la création d'assemblages supra-moléculaires ;

- ii) la physique pour le développement de techniques innovantes de caractérisation aussi bien au niveau de la molécule individuelle que de la cellule (développements récents et spectaculaires des détecteurs numériques vidéo par exemple qui ont rendu possible l'imagerie par microscopie de fluorescence au niveau subcellulaire et les études en molécule isolée) ;

- iii) l'informatique pour la modélisation au niveau moléculaire et cellulaire. Une position d'interface tournée vers les problématiques biologiques, qui place naturellement l'enzymologie en section 21.

Métabolisme, nouvelles approches

L'augmentation considérable de nos connaissances des systèmes vivants dans le contexte post-génome, a en même temps soulevé le problème sérieux (et inattendu par la plupart des chercheurs dans ce domaine) de l'impossibilité de prédire le comportement d'un système complexe à partir des données sur les propriétés de ses composants isolés. Le système entier n'évolue pas forcément dans le sens attendu d'un assemblage de composants dont on connaît les interactions. L'observation la plus marquante du problème est la réalisation que la majorité des gènes sont « silencieux ». Dans la levure, par exemple, il y a une probabilité d'à peu près 80 % que la suppression d'un gène quelconque ne produise aucun effet sur la croissance dans des conditions ordinaires, ni aucun effet sur les flux métaboliques qu'on peut mesurer.

Plus généralement, les essais de manipulation des organismes à des fins technologiques pendant les vingt dernières années ont été beaucoup moins réussis que prévu car basés sur une idée trop simpliste du comportement des systèmes. Les études du métabolisme sont en train d'améliorer cette situation à plusieurs niveaux, à la fois informatiques, expérimentaux et théoriques. La simulation sur ordinateur devient de plus en plus performante, et il est maintenant possible d'analyser des systèmes qui contiennent des dizaines de réactions, à condition que la cinétique de chaque enzyme soit connue. Cependant, la plupart de ces données cinétiques manquent actuellement, et beaucoup d'efforts sont encore nécessaires pour isoler et étudier des enzymes dans des conditions physiologiques. En même temps sont développées des méthodes de prédiction à partir de données incomplètes (par exemple des informations stœchiométriques mais non cinétiques), pour déterminer des concentrations des métabolites *in vivo* avec plus de sensibilité et de précision.

Enfin, la théorie de la régulation de l'activité enzymatique qui date des années 1960 se transforme peu à peu en une théorie moderne qui prend compte des interactions entre les enzymes et du dessin « économique » de la cellule, permettant de varier la production des métabolites en fonction de la demande.

Les bases moléculaires et structurales de la transduction du signal

La transduction du signal au niveau cellulaire correspond au passage d'un signal de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule et aux voies de régulation afférentes qui permettent à la cellule de modifier son activité et le programme d'expression de ses gènes. Ces voies de transduction du signal sont très complexes : elles font intervenir des récepteurs membranaires, qui activent toute une cascade de réactions enzymatiques et d'interactions protéine/protéine avec un grand nombre de boucles de régulation et d'interdépendance entre voies de signalisation (cross-talk). La biophysique, l'enzymologie, la biologie structurale, la simulation et la modéli-

sation, bien représentées dans nos laboratoires, sont les outils à mettre à profit pour s'attaquer à cette problématique essentielle en biologie et en santé humaine.

Les bases moléculaires et structurales des voies de transduction du signal et de leur dynamique constituent cependant un champ d'études encore trop peu exploré en France, et qui doit être fortement soutenu, notamment par la section 21. Autant une recherche de qualité et importante est réalisée en France au niveau des événements terminaux des voies de transduction du signal (expression des gènes, facteurs de transcription, récepteurs intra-cellulaires tels que les récepteurs nucléaires), autant l'analyse structurale et moléculaire des protéines impliquées dans la transmission du signal au niveau de la membrane et des relais intermédiaires est sous-représentée.

Parmi les champs d'investigation sur lesquels l'effort devrait se renforcer, il faut particulièrement mentionner les récepteurs membranaires, mis à jour par les biologistes cellulaires qui ont cloné les gènes correspondants. Trois grandes classes sont concernées :

- les récepteurs canaux. C'est la voie la plus simple où la fixation du ligand produit un signal sous la forme d'un mouvement ionique entrant ou sortant de la cellule ;

- les récepteurs membranaires ayant une activité enzymatique intrinsèque tels que les tyrosine kinases, tyrosine phosphatases, guanylate cyclases et serine/threonine kinases. On peut faire entrer dans cette catégorie les récepteurs sans activité enzymatique mais en interaction directe avec des kinases par interaction protéine/protéine ;

- les récepteurs couplés aux protéines G trimériques (RCPG) à 7 hélices transmembranaires : il s'agit de la classe de récepteurs la plus vaste.

Les données structurales sur ces protéines essentielles sont particulièrement parcellaires. C'est un véritable défi à relever que de sur exprimer ces protéines membranaires de manière à permettre leur l'étude structurale.

En aval des récepteurs membranaires, les acteurs de la transduction du signal agissent par des interactions protéine-protéine, souvent par l'intermédiaire de modules ou de domaines, eux-mêmes régulés par des modifications par phosphorylation dont l'importance est soulignée dans la section suivante. Ces interactions mettent en place des 'cross-talk' des voies de signalisation entre elles et avec les différents aspects de la réponse de la cellule : c'est ainsi, par exemple, qu'un signal extra-cellulaire, par l'intermédiaire des cascades intra-cellulaires qu'il active, peut modifier le transport intra-cellulaire et l'organisation du cytosquelette. Ce domaine en pleine expansion doit se développer également dans ses aspects moléculaires et structuraux qui devront être soutenus et renforcés dans nos laboratoires.

L'étude des modifications post-traductionnelles

La majorité des protéines impliquées dans les mécanismes de la communication et du trafic intracellulaires et intercellulaires subissent des modifications post-traductionnelles. En effet, les propriétés d'un organisme ne sont pas simplement la somme des informations codées par ses gènes mais sont régies, en outre, par ces modifications.

L'étude des relations entre les modifications post-traductionnelles, en particulier la phosphorylation et la glycosylation, et les grandes fonctions biologiques requiert une approche globale que la protéomique permet, à priori, de résoudre. Néanmoins, une étude systématique de la nature et de la dynamique des modifications nécessite le recouvrement de la séquence complète des protéines, et donc une optimisation des méthodes de séparation, du traitement de l'échantillon et des techniques de la spectrométrie de masse et de la bio-informatique devant permettre un travail en routine à l'échelle de la femtomole et même de l'attomole. À cette fin, et dans un contexte de compétition internationale académique et privée, la France et l'Europe ont besoin constamment de renforcer leurs effectifs et équipements dans ces domaines.

Par ailleurs, l'extrême complexité des modifications post-traductionnelles, en relation directe avec la biodiversité, impose une étude structurale systématique indispensable à l'étude de leurs rôles, de leurs systèmes de biosynthèse et de leurs cibles moléculaires et cellulaires. Cette démarche nécessite d'optimiser les méthodes et les techniques d'analyse structurale, notamment en spectrométrie de masse, RMN, cristallographie et modélisation moléculaire, mais aussi et surtout de mettre en commun les résultats obtenus par ces techniques. Elle implique de mobiliser et de coordonner les efforts et les moyens nécessaires, à la fois à l'échelle nationale et internationale. Elle se place résolument à l'interface de la biologie, de la chimie et de la physique, en parfaite adéquation avec les contours scientifiques de la section 21.

Évolution moléculaire des structures et des fonctions

Les progrès très importants et récents dans les domaines de la génomique, la protéomique, la caractérisation structurale et physico-chimique des macromolécules et la bio-informatique ont également permis de grandes avancées dans l'étude de l'évolution des structures et des fonctions des protéines et ARN à l'échelle moléculaire.

Il est connu depuis longtemps que les structures des macromolécules sont globalement mieux conservées que leurs séquences et leurs fonctions. Au cours des dernières années, il a été montré qu'elles font appel à un nombre relativement limité de motifs structuraux qui pourraient constituer les « briques évolutives élémentaires ».

Beaucoup d'efforts ont été mobilisés pour étudier l'impact relatif et les conséquences structurales et fonctionnelles des différents mécanismes moléculaires de diversification que sont les mutations ponctuelles, les recombinaisons, les insertions/délétions ou les duplications. Il n'apparaît pas encore clairement à ce jour si l'évolution des structures, qui fait intervenir des événements tels que la permutation, la substitution

ou l'oligomérisation de modules structuraux, procède de manière continue ou discontinue (par sauts évolutifs), et quel est son degré de corrélation avec l'évolution des fonctions. Il a été montré que des repliements différents peuvent converger vers une même fonction, en permettant par exemple aux résidus critiques pour une réaction catalytique de se trouver correctement positionnés quel que soit l'échafaudage qui les porte. Réciproquement, de nombreux exemples d'évolution divergente d'une même architecture élémentaire vers des fonctions très distinctes ont été mis en évidence. Par ailleurs, on commence à peine à comprendre comment une structure macromoléculaire peut acquérir *de novo* une fonction catalytique ou régulatrice, et comment son implication dans un assemblage supra-moléculaire, un réseau d'interactions ou une voie métabolique peut influencer son évolution.

Les travaux sur l'évolution naturelle des structures et des fonctions ont été accompagnés par de très grands progrès dans les capacités d'étude expérimentale de l'évolution des macromolécules biologiques. De nouvelles méthodes sophistiquées de diversification par ingénierie génétique ou chimique ont été mises au point, et des protocoles de plus en plus fins et performants ont été développés pour sélectionner *in vitro* ou *in vivo* des modifications de paramètres physico-chimiques ou fonctionnels des macromolécules tels que leur stabilité thermodynamique, leur affinité ou leur spécificité pour un ligand, leur mode de régulation allostérique ou leur efficacité catalytique. Ces études permettent notamment de sonder la robustesse et la plasticité des repliements moléculaires, et de vérifier la validité des hypothèses quant à leur rôle en tant qu'entités évolutives. Les développements méthodologiques qui leur sont associés ont également permis d'aboutir à de nombreux catalyseurs ou autres molécules actives, optimisés pour des applications dans les domaines de la santé, la chimie fine, l'agro-alimentaire ou l'environnement.

On peut être certains que la protéomique et RNomique comparative et évolutive, et ses extensions biotechnologiques, seront amenées à connaître un développement exponentiel au cours des toutes prochaines années (l'échéance sera probablement plus longue

en ce qui concerne l'autre grande famille de polymères biologiques que sont les polysaccharides). Même si certains laboratoires français, rattachés notamment à la section 21, ont contribué de manière significative aux avancées récentes dans ces domaines, la France accuse un retard qu'il serait fortement souhaitable de combler par la mise en œuvre d'importants efforts interdisciplinaires et de plus grands moyens incitatifs, qui peuvent impliquer à la fois des partenaires académiques et industriels.

Microbiologie

La « science des microbes » s'est remarquablement développée depuis sa création au XIX^e siècle et a permis de faire des avancées spectaculaires dans la compréhension des mécanismes moléculaires du vivant. À chaque étape et en fonction des technologies disponibles, de nouvelles connaissances ont été acquises et une quantité immense de données a été accumulée. Cependant, il ne s'agit pas de considérer que cette discipline est aujourd'hui devenue une science « morte », ayant atteint une sorte d'état d'équilibre.

Il est bien clair que nous n'avons encore qu'une connaissance superficielle du monde microbien. Il convient donc de mettre l'accent sur un nombre limité de thématiques d'actualité, par nature imprévisible. Il faut également tenir compte des demandes particulièrement fortes de la société comme la lutte contre les maladies infectieuses émergentes et re-émergentes et la protection de l'environnement.

Les années 80 ont vu se développer les technologies de biologie moléculaire devenues indispensables de nos jours. La connaissance des génomes, des protéomes et des interactomes, le développement des analyses bioinformatiques et les approches de biologie structurale sont des étapes technologiques marquantes des années 90. Elles ouvrent de nouvelles perspectives dans les façons d'aborder des questions telles que :

- biodiversité et versatilité : pathogénicité et mécanismes d'adaptation aux conditions extrêmes ;
- écosystèmes : organisation et dynamique ;
- interactions moléculaires entre les micro-organismes et leur environnement ;
- symbiose et commensalisme ;
- résistance aux antibiotiques et antiviraux ;
- évolution des génomes et des protéomes, et co-évolution hôte-microbe.

Les outils génétiques et moléculaires devraient nous permettre d'identifier de nouveaux organismes profondément différents de ceux découverts et étudiés jusqu'à présent.

L'étude génomique et protéomique globale (fonctionnelle et structurale) d'organismes significatifs de l'environnement promet des recherches excitantes et des découvertes importantes dans tous les domaines de la biologie microbienne.

Le choix de bons modèles pour les études moléculaires en laboratoire est une étape capitale pour déterminer la nature et l'importance de la diversité moléculaire des microorganismes de la biosphère. Idéalement, et à plus long terme, ces études devraient comprendre les étapes suivantes :

- les relations structure-fonction des macromolécules et des assemblages macromoléculaires ;
- l'intégration des fonctions moléculaires dans la physiologie de la cellule ;
- les mécanismes moléculaires mis en jeu lors des interactions entre le micro-organisme et son environnement ;
- la diversité et les développements durables : mécanismes de la biodiversité, de son organisation et de sa dynamique, biosystématique, écophysiologie, mécanismes d'adaptation, relation entre dynamique et génétique des populations.

Il est essentiel de soutenir une recherche fondamentale en microbiologie en favorisant l'étude des mécanismes moléculaires sous-jacents au fonctionnement de la cellule. L'intégration de ces mécanismes dans la dynamique cellulaire doit être un axe de recherche privilégié.

Marseille 4 et 5 décembre 2002