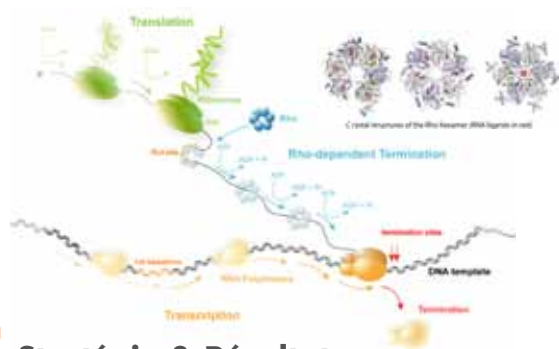


Transient Interactions and Molecular Dynamics in Transcription Regulatory Pathways

Marc Boudvillain (Centre de Biophysique Moléculaire, Orléans)
Emmanuel Margeat (Centre de Biochimie Structurale, Montpellier).

Contexte & Objectifs

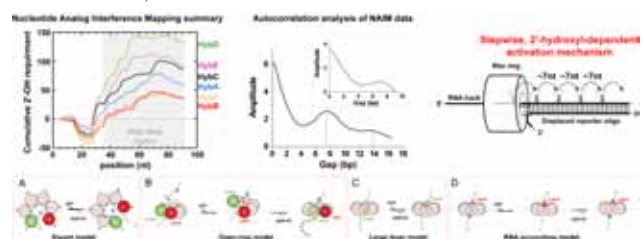
De par leur nature furtive, de nombreux événements biologiques cruciaux sont difficilement étudiables par les approches classiques. Par exemple, la transcription, première étape de l'expression génique, implique des « nano-engins » qui se déplacent, interagissent et se réarrangent rapidement dans la cellule. Notre objectif, initié au cours de ce projet, est le développement d'outils dédiés à l'exploration des dynamiques moléculaires impliquées dans les mécanismes d'expression et de régulation géniques. Ce développement est basé sur l'étude du système modèle de terminaison de la transcription Rho-dépendante, un processus de régulation génique essentiel et spécifique aux bactéries.



Stratégie & Résultats

Notre approche repose sur des techniques innovantes et complémentaires de manipulation moléculaire, d'observation à l'échelle de la molécule unique et de cartographie moléculaire combinatoire. L'immobilisation sur surface permet la préparation, le tri et la synchronisation de complexes moléculaires choisis. L'observation de ces complexes par microscopie de fluorescence de molécules uniques (MFMU) révèle les distributions statistique et temporelle des événements moléculaires spécifiques au processus étudié. Enfin, des approches combinatoires (NAIM & NAIS) reposant sur le principe d'interférence aux sondes chimiques permettent d'identifier rapidement les interactions

moléculaires fonctionnellement importantes au sein de ces complexes quelque soient leur durées de vie. Nous avons démontré le grand intérêt de cette approche en identifiant un mécanisme inédit de déplacement de Rho reposant sur un phénomène périodiquement répété d'activation de sa fonction «ARN hélicase» induite par la reconnaissance de composants moléculaires spécifiques (groupements 2'-OH) au sein de sa « piste » ARN.



Conclusions & Perspectives

Combinés aux modèles structuraux existants, nos données actuelles offrent un nouveau paradigme du fonctionnement de Rho. A terme, nous espérons pouvoir imager en temps réel le mécanisme de terminaison Rho-dépendante et générer le premier modèle dynamique d'une voie de régulation transcriptionnelle. C'est l'un des objectifs du projet ANR TERMINATOR (Blanc 2010; coordinateur: E. Margeat).

Publications

- Rabhi, Gocheva, Jacquinet, Lee, Margeat, & Boudvillain, *Mutagenesis-based evidence for an asymmetric configuration of the ring-shaped transcription termination Rho factor*, *J. Mol. Biol.* (2011), 405(2), 497-518
- Schwartz, Rabhi, Jacquinet, Margeat, Rahmouni, & Boudvillain, *A stepwise 2'-hydroxyl activation mechanism for the bacterial transcription termination factor Rho helicase*, *Nature Struct. Mol. Biol.* (2009) 16, 1309-1316.
- Schwartz, Margeat, Rahmouni & Boudvillain, *Transcription termination factor Rho can displace streptavidin from biotinylated transcript substrates*, *J. Biol. Chem.* (2007) 82, 31469-76.
- Schwartz, Walmaçq, Rahmouni & Boudvillain, *Non-canonical interactions in the management of RNA structural blocks by transcription termination Rho helicase*, *Biochemistry* (2007) 46, 9366-9379.

CONTACT :

marc.boudvillain@cncs-orleans.fr



Centre de Biochimie Structurale
Montpellier

Inserm
Institut national de la santé et de la recherche médicale

