

Des nanomachines photochimiques pour explorer le vivant

Des pinces moléculaires photoisomérisables capables d'ouvrir des canaux ioniques dans les cellules

Thomas Grutter, Chloé Habermacher et Laurie Peverini

Résumé

Au cours des dix dernières années, les exemples de molécules chimiques se comportant comme des nanomachines capables de contrôler des processus biologiques se sont multipliés de manière importante. Appliquées dans divers domaines de la biologie cellulaire, ces molécules ont permis d'obtenir des résultats spectaculaires dans la compréhension de phénomènes neurobiologiques. Ainsi, des entités chimiques pouvant se plier ou se déplier sous l'action de la lumière ont permis de contrôler l'activité de certaines protéines indispensables au fonctionnement du cerveau. Cet article présente une catégorie de commutateurs chimiques, des « pinces photoisomérisables », et leur application dans le contrôle de l'activité des récepteurs canaux P2X. Dans ce contexte, elles ont permis d'identifier les mouvements moléculaires qui sont à l'origine de l'ouverture de ce récepteur canal ionique. Ces nouveaux outils éclairent davantage le mode de fonctionnement des canaux ioniques et ouvrent de nouvelles perspectives prometteuses dans l'exploration du monde vivant.

Mots-clés

Azobenzène, récepteurs canaux, mouvements moléculaires, protéines, modélisation moléculaire.

Abstract

Photochemical nanomachines to explore life sciences

During the last decade, the development of molecular machine to control important biological processes has blossomed with the introduction of new techniques that allow the measure of specific functions. One area of the life sciences where the results have been particularly spectacular is neurobiology. Chemical photoswitches able to bend or unfold under light irradiation have been successfully used to optically control the function of ion channels, which are critical proteins involved in brain function. This article presents photoisomerizable “tweezers” able to control optically P2X receptor function, and to identify molecular motions accompanying the opening of the pore. These “chemical photo-switchable tweezers” shed new light on ion channel function and open new chemical perspectives in the life sciences.

Keywords

Azobenzene, channel receptor, photo-switches, proteins, molecular modeling.

Les macromolécules biologiques, comme l'ADN ou les protéines, adoptent différentes formes (ou états conformationnels) essentielles afin d'accomplir la fonction biologique pour laquelle elles sont programmées. Ces mouvements moléculaires sont généralement induits par des signaux externes physiques ou chimiques. Ils inspirent depuis de nombreuses années les chimistes, au point de créer des « machines moléculaires » nanométriques capables de reproduire de manière spectaculaire certains aspects de ces fonctions biologiques [1]. Ces travaux ont été couronnés du prix Nobel de chimie en 2016.

Une application de cette discipline consiste à utiliser ces nanomachines comme outils de contrôle de l'activité biologique. Correctement insérés dans les macromolécules biologiques, ces outils chimiques peuvent changer de forme sous l'action d'un signal externe, par exemple la lumière, mimant ainsi les mouvements naturels de la macromolécule biologique [2].

L'utilisation de cette technologie a mené à des avancées spectaculaires dans le domaine de la neurobiologie. En effet, depuis 2006, il est devenu possible de contrôler à distance l'activité électrique des neurones grâce à la fonctionnalisation

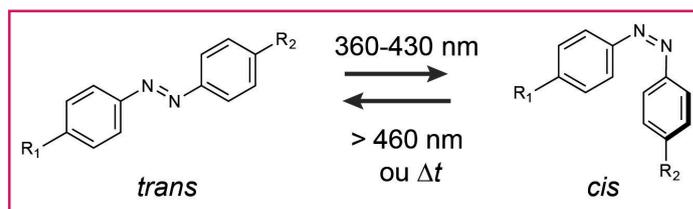


Figure 1 - Isomérisation autour de la liaison N=N d'une fonction azobenzène. Une irradiation à 360-430 nm permet de basculer l'azobenzène de l'isomère *trans* vers l'isomère *cis*. La transition retour *cis* → *trans* est possible photochimiquement par une irradiation d'une longueur d'onde plus grande (> 460 nm) ou thermiquement (Δt). Ce changement permet de contrôler la position spatiale des substituants R_1 et R_2 .

de neuromédiateurs* par des molécules photoisomérisables ou « photoswitches » [3-4].

Les « photoswitches » les plus utilisés sont des dérivés de l'azobenzène, dont l'isomérisation *trans* (E) → *cis* (Z) de la double liaison N=N permet de contrôler la position spatiale des groupements R_1 et R_2 substitués en position *para* de l'azobenzène (figure 1). Ces changements de configuration

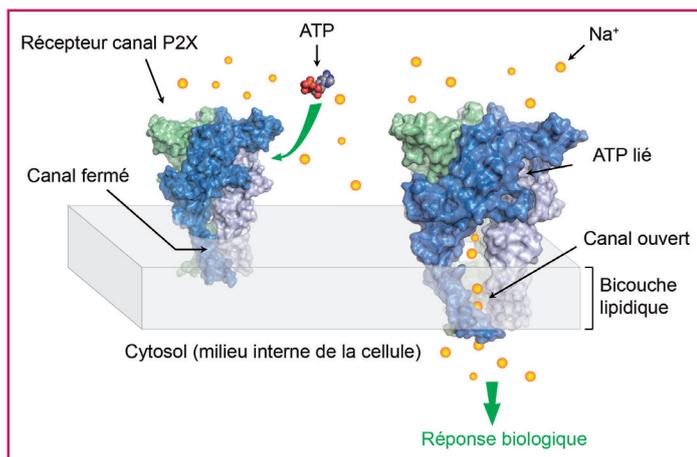


Figure 2 - Structures tridimensionnelles des récepteurs P2X insérés dans une bicouche lipidique schématisée par un parallélépipède gris. Chaque sous-unité du récepteur trimérique est indiquée par une couleur différente. La liaison de l'ATP dans son site spécifique conduit à l'ouverture rapide du pore ionique. Le passage des ions (ici Na^+) dans la cellule déclenche la réponse biologique.

permettent au neuromédiateur fonctionnalisé d'activer ou d'inactiver la fonction biologique. À l'obscurité, l'état *trans*, plus stable de $\sim 50 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ que l'état *cis*, se trouve majoritaire, mais une irradiation lumineuse dans le domaine de l'UV proche (360-430 nm) permet de basculer rapidement l'isomère *trans* vers l'isomère *cis*. Le retour dans l'état *trans* peut se faire par relaxation thermique et/ou photochimiquement suite à une irradiation dans le domaine de la lumière visible ($> 460 \text{ nm}$). Les molécules subissent ainsi un changement de distance entre leurs extrémités de plusieurs angströms qui peut être associé à un mouvement dans la protéine étudiée ou au contrôle de la liaison du neuromédiateur à son site de liaison [4]. Ces outils de recherche ont permis d'améliorer non seulement nos connaissances fondamentales sur le fonctionnement du système nerveux [5-6], mais ouvrent aussi de nouvelles perspectives comme futurs médicaments, capables de soigner, par exemple, des personnes atteintes de cécité [7].

Les récepteurs canaux ioniques P2X

Inspirée par ces travaux, notre équipe à l'Université de Strasbourg a récemment développé des méthodes très similaires [8-9]. Dans l'une d'elles, nous avons cherché à contrôler le mouvement moléculaire d'ouverture d'un récepteur canal* à l'aide de pinces moléculaires photoisomérisables [9]. Nos cibles d'étude sont les récepteurs P2X activés par l'adénosine 5'-triphosphate (ATP) impliqués dans de nombreuses voies physiopathologiques et reconnus comme des cibles thérapeutiques majeures. Ces récepteurs sont des canaux sélectifs aux cations (Na^+ , K^+ ou Ca^{2+}) constitués de trois chaînes polypeptidiques (ou sous-unités) qui s'assemblent par reconnaissance supramoléculaire dans la membrane plasmique autour d'un axe de symétrie d'ordre trois au sein duquel se trouve le pore ionique (figure 2). Chez les mammifères, il existe sept sous-unités P2X distinctes, dénommées P2X1 à P2X7, qui peuvent former des homotrimères (trois sous-unités identiques) ou hétérotrimères (sous-unités non identiques). De récentes études cristallographiques ont dévoilé la structure tridimensionnelle du récepteur et montré que le pore, où transitent les ions, est constitué de six hélices α^* (chaque sous-unité possède deux hélices appelées TM1 et TM2) dont seules trois hélices (TM2) bordent les parois

du canal [10]. En se fixant spécifiquement dans son site de liaison qui se trouve à plusieurs dizaines d'angströms du canal ionique, l'ATP va provoquer en quelques millisecondes une série de mouvements moléculaires ou changements de conformation de la protéine, ce qui va entraîner l'ouverture du pore. Le passage transitoire des cations au travers de la membrane conduit à la réponse biologique. Cette perméation ionique peut être quantifiée par la technique d'électrophysiologie patch-clamp* qui mesure le courant ionique au travers des cellules vivantes.

Une pince photoisomérisable : le MAM

Pour contrôler les mouvements moléculaires des récepteurs P2X, notre stratégie nécessite une molécule, appelée MAM (maléimide azobenzène maléimide), contenant deux parties essentielles (figure 3) :

- la fonction azobenzène, utilisée avec succès dans les outils nanométriques décrits précédemment [4], pour effectuer la photoisomérisation ;
- deux fonctions maléimide greffées aux extrémités de l'azobenzène, préformées sur la fonction amine d'une glycine dont la fonction acide est impliquée dans une liaison amide avec les fonctions amine libres du diamino-azobenzène. Ces fonctions maléimide réagissent dans le récepteur *via* une addition de Michael avec les thiols des cystéines [9]. Ceci implique l'introduction par mutagenèse dirigée de cystéines au sein de la séquence du récepteur P2X. Un prérequis important est que pour garantir un pontage efficace, il faut que la distance

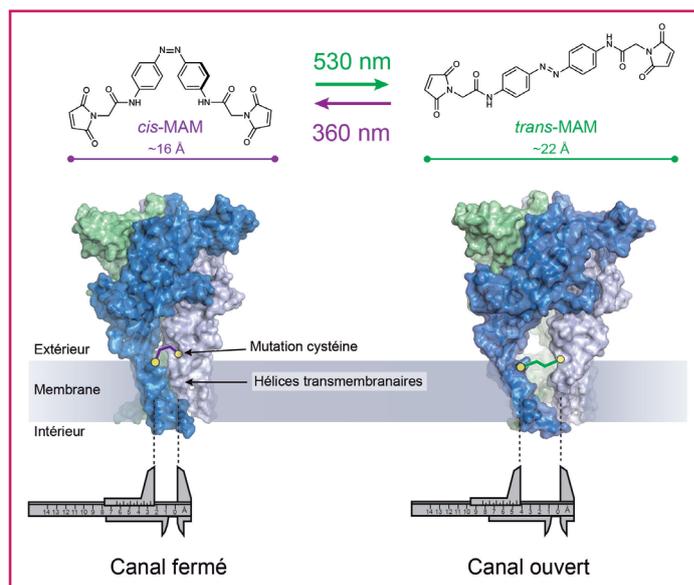


Figure 3 - Stratégie d'utilisation des pinces photoisomérisables pour le photocontrôle des récepteurs P2X. La structure chimique du MAM (maléimide azobenzène maléimide) dans sa configuration *cis* et *trans* est représentée en haut. Inséré de façon covalente dans le récepteur, le MAM permet de contrôler par la lumière l'activité du récepteur P2X. La réaction covalente s'effectue à pH physiologique (pH 7,3) suite à l'addition des cystéines (addition de Michael) sur les maléimides. Les cystéines sont introduites par mutagenèse dirigée. Dans cet exemple, la configuration *cis* du MAM induite par une irradiation à 360 nm rapproche les hélices transmembranaires et ferme le canal ionique. En revanche, l'extension du MAM dans sa configuration *trans*, suite à une irradiation à 530 nm, éloigne les hélices transmembranaires, ce qui a pour conséquence d'ouvrir le canal. À noter que ces mouvements, qui peuvent être quantifiés en termes de distances relatives, s'effectuent en absence d'ATP.

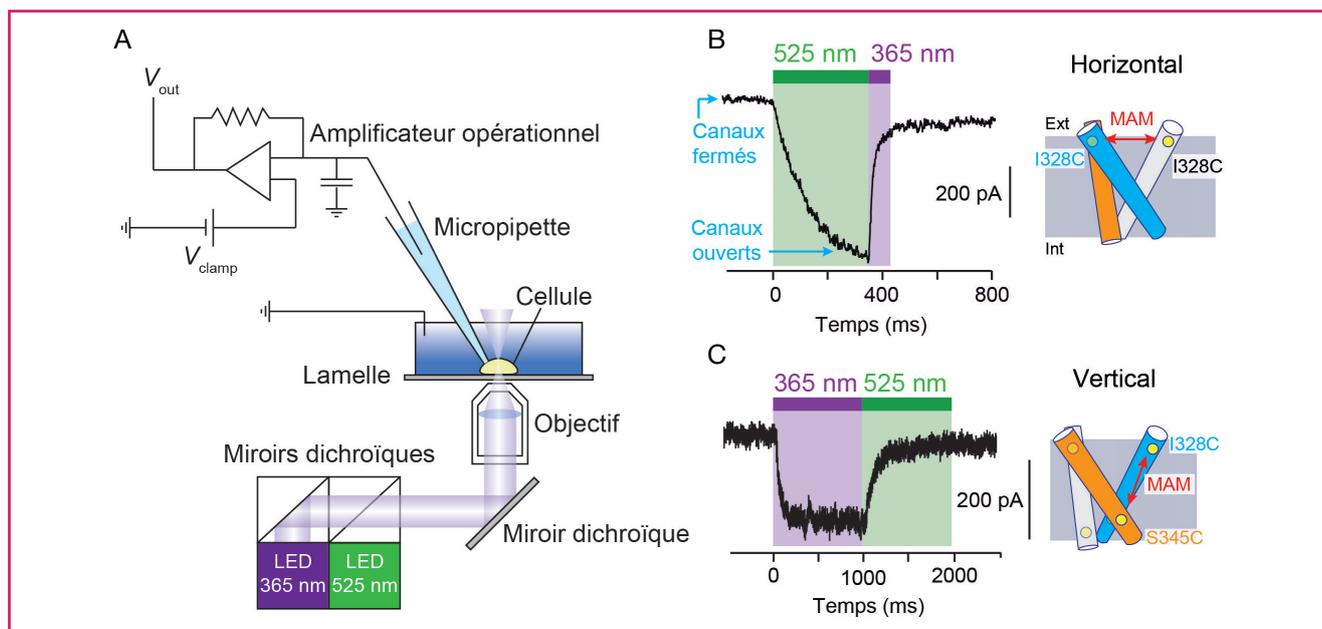


Figure 4 - Méthodologie et résultats expérimentaux. (A) Schéma simplifié du dispositif expérimental d'électrophysiologie patch-clamp couplé à un système d'irradiation LED. La taille de la cellule est exagérément augmentée pour des raisons de clarté. (B) Enregistrement en configuration cellule entière de courants induits par la lumière (les longueurs d'ondes sont indiquées dans la figure) sur une cellule exprimant le récepteur P2X2 muté au niveau du résidu I328 (I328C) et qui a été incubée avec le MAM. Dans cette configuration, plusieurs milliers de canaux sont enregistrés. À droite de la trace électrophysiologique est indiqué un modèle simplifié des trois hélices TM2 porteuses de la mutation I328C dont deux hélices sont pontées horizontalement par le MAM. Dans cet exemple, un seul pontage est possible sur le trimère. (C) Enregistrement en configuration cellule entière de courants induits par la lumière sur une cellule exprimant le récepteur P2X2 possédant la double mutation I328C/S345C et qui a été incubée avec le MAM. À droite est indiqué le modèle simplifié des trois hélices TM2 porteuses des mutations I328C et S345C dont deux hélices sont pontées verticalement par le MAM. Par soucis de clarté, seul un pontage vertical sur trois est représenté sur le trimère.

séparant les deux cystéines introduites soit compatible avec la taille du MAM. Pour satisfaire ce critère de distance, nous avons été guidés par les récentes structures tridimensionnelles du récepteur P2X [10] et par des études de simulation de dynamiques moléculaires.

Application à l'étude des récepteurs canaux P2X

Pour sonder les mouvements moléculaires du canal P2X, nous nous sommes focalisés sur la région transmembranaire de la protéine qui constitue le pore ionique (figure 3). Guidés par les structures tridimensionnelles, nous avons substitué, un à la fois, des acides aminés de l'hélice TM2 en résidus cystéine, en sélectionnant préférentiellement les positions accessibles au solvant (c'est-à-dire des résidus non enfouis dans la protéine) afin de permettre la réaction avec le MAM. Les récepteurs P2X mutants sont surexprimés individuellement dans des cellules vivantes grâce à des techniques de transfection*. Chaque mutant est alors incubé avec le MAM pendant plusieurs minutes afin de favoriser la réaction de couplage, et l'excès de MAM, qui n'a pas réagi avec les récepteurs, est éliminé par des lavages successifs avec une solution tamponnée. Afin d'enregistrer des courants induits par la lumière, nous avons installé un système d'irradiation LED sur le poste de patch-clamp de manière à pouvoir enregistrer des courants ioniques résultant des impulsions lumineuses (figure 4A). Enfin, pour s'assurer que le MAM a bien ponté les deux cystéines provenant de sous-unités distinctes, les protéines sont séparées sur SDS-PAGE*, permettant de visualiser l'apparition caractéristique de dimères ou trimères entre les sous-unités du récepteur.

Glossaire

Les termes suivis d'un astérisque* dans le texte sont définis ci-dessous.

Électrophysiologie patch-clamp : technique permettant d'enregistrer des courants ioniques transitant dans les membranes cellulaires à l'aide d'une électrode de verre (ou micropipette) qui est mise en contact électrique avec l'intérieur de la cellule (voir figure 4A). Ses inventeurs, Erwin Neher et Bert Sakmann, ont reçu le prix Nobel de physiologie/médecine en 1991.

Hélice alpha : structure secondaire des protéines dans laquelle des liaisons hydrogène entre les acides aminés vont former une hélice de pas 3,6 (c'est-à-dire 3,6 acides aminés par tour d'hélice).

Neuromédiateurs : molécules impliquées dans la communication nerveuse entre les neurones. Les neuromédiateurs en se fixant sur des récepteurs spécifiques localisés à la surface des neurones déclenchent une réponse biologique. Exemples de neuromédiateurs : le GABA (l'acide gamma-aminobutyrique), le glutamate ou l'ATP.

Récepteur canal : protéines membranaires activées par un ligand dont le rôle est de contrôler le transport de solutés (généralement des ions) dans la membrane plasmique des cellules au travers d'un pore ionique. Les ligands peuvent être des neuromédiateurs.

SDS-PAGE : technique biochimique consistant à séparer sur un gel de polyacrylamide en condition dénaturante des protéines selon leurs poids moléculaires apparents.

Transfection : technique consistant à faire rentrer dans les cellules des plasmides (ADN circulaire) contenant un gène codant pour une protéine d'intérêt. Un complexe neutre entre les plasmides (chargés négativement) et un agent de transfection (chargé positivement) permet à l'ADN de franchir les membranes cellulaires.

Étude des mouvements moléculaires impliqués dans l'ouverture des récepteurs P2X

Grâce à toutes ces techniques, nous avons pu identifier deux mouvements induits par la lumière lorsque le MAM est inséré correctement dans le récepteur P2X. Le premier mouvement correspond à un élargissement latéral des hélices TM2 qui bordent les parois du canal (*figure 4B*). Ce mouvement est observé lorsqu'une irradiation lumineuse à 525 nm est appliquée sur le MAM préalablement inséré dans le mutant I328C (isoleucine 128 mutée en cystéine) du récepteur P2X2. Cette impulsion induit l'isomérisation de l'azobenzène dans la configuration *trans*, qui est la plus étendue, ce qui a pour conséquence d'éloigner les deux hélices alpha portant les mutations I328C. Cet élargissement provoque du coup l'ouverture du canal. En revanche, une irradiation lumineuse à 365 nm conduit au passage dans la configuration *cis* de l'azobenzène, rapprochant les hélices entre elles, et ainsi referme le canal. Cette fermeture reste stable à l'obscurité, suggérant que la protéine force l'azobenzène du MAM à rester dans la configuration énergétiquement moins favorable *cis*. Le contrôle de l'ouverture et de la fermeture du canal est non seulement réversible mais également reproductible puisque les azobenzènes ne se dégradent pas à la lumière. Ce mouvement d'extension latérale des hélices est en accord avec celui prédit par les études cristallographiques de récepteurs fermés et ouverts, bien que l'amplitude du mouvement soit plus faible que celle prédite par les structures aux rayons X (voir partie suivante).

Le deuxième mouvement que nous avons identifié correspond à un mouvement vertical par rapport au plan de la membrane (*figure 4C*). Ce mouvement rapproche de quelques angströms le résidu I328 muté en cystéine (I328C) de l'extrémité extracellulaire d'une hélice TM2 au résidu S345 muté en cystéine (S345C) de l'extrémité intracellulaire d'une autre hélice adjacente. Contrairement à ce qui a été observé précédemment, c'est la configuration *cis* du MAM qui ouvre le canal, et la configuration *trans* qui le referme. De façon surprenante, ce mouvement n'avait pas été anticipé par les structures cristallographiques. Pour l'expliquer, nous avons émis l'hypothèse que les segments TM2 se plient à un endroit précis de l'hélice, permettant ainsi aux extrémités des hélices de se rapprocher. L'examen de l'alignement de 24 séquences primaires provenant de récepteurs P2X différents révèle une très grande conservation d'un résidu glycine au milieu de l'hélice TM2, suggérant que ce résidu joue un rôle important dans la fonction du récepteur au sein de la famille P2X. Étant donné que les glycines, de par l'absence de chaîne latérale, sont connues pour permettre une flexibilité des hélices alpha, nous avons émis l'hypothèse que ce résidu pouvait jouer le rôle de pivot dans l'activation des récepteurs P2X. Nous avons donc muté cette glycine en résidu proline, dont la géométrie particulière de la chaîne latérale permet de « couder » les hélices alpha avec l'espoir que cette mutation favoriserait l'activation du récepteur. En accord avec cette prédiction, nous avons observé pour ce récepteur mutant un gain de fonction de l'ATP, validant ainsi notre hypothèse.

Confirmation et interprétation des résultats expérimentaux par modélisation moléculaire

Comment ces résultats peuvent-ils être interprétés en termes de mouvements moléculaires au sein de la protéine ?

Nous avons collaboré avec le groupe de Marco Cecchini (ISIS, Strasbourg), spécialisé dans la modélisation moléculaire de protéines membranaires, afin d'intégrer les données expérimentales obtenues à des modèles moléculaires. Ces modèles ont été préparés à partir de structures cristallographiques déterminées dans la littérature. En effet, la structure du récepteur P2X4 a été résolue en absence et en présence d'ATP, ce qui a constitué une avancée majeure dans le domaine [10]. Cependant, ces structures sont à considérer avec précaution car le processus de cristallisation peut engendrer certaines limites. Premièrement, pour favoriser la cristallisation, les protéines ont été tronquées dans leurs extrémités intracellulaires ; cette « amputation » protéique a des répercussions sur la fonctionnalité du récepteur. Deuxièmement, pour purifier les récepteurs P2X, ceux-ci ont été solubilisés à l'aide de détergents qui peuvent induire des modifications importantes dans la structure du pore. L'examen des structures cristallographiques du canal ouvert (c'est-à-dire la structure en présence d'ATP) montre effectivement l'existence de « crevasses » entre les hélices transmembranaires (*figure 5B*). Or, une étude récente a démontré par modélisation moléculaire que des molécules de lipides de la bicouche membranaire peuvent traverser ces crevasses

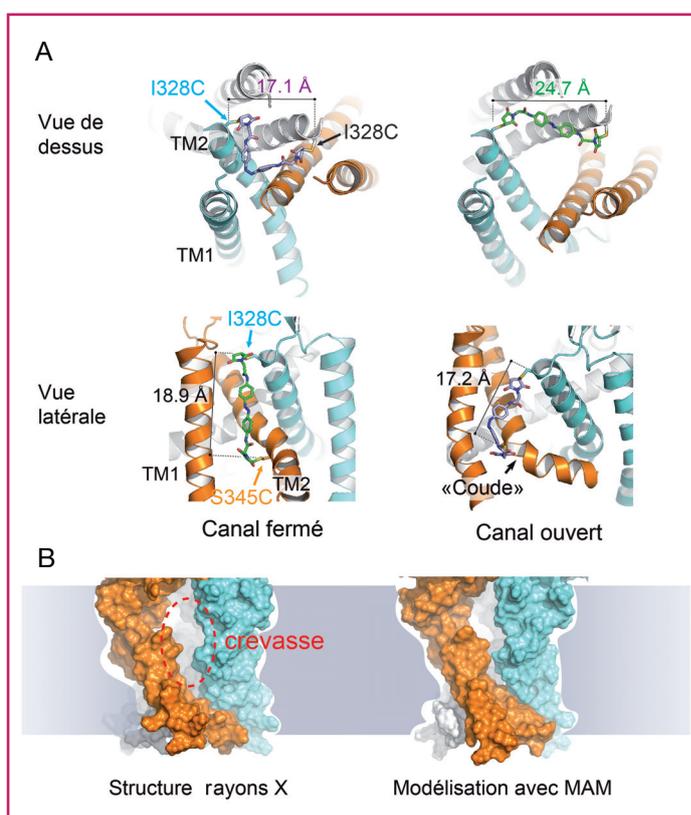


Figure 5 - La modélisation moléculaire des récepteurs P2X en présence de MAM confirme les résultats expérimentaux et affine les structures cristallographiques existantes. (A) Vues du dessus (haut du panel) et latérale (bas) du pore ionique dans l'état fermé (gauche) et ouvert (droite). Le MAM est ponté soit horizontalement entre deux cystéines I328C, soit verticalement entre I328C et S345C provenant de deux sous-unités différentes (chaque sous-unité est colorée de façon différente). Les hélices TM1 et TM2 qui forment le canal ionique sont indiquées pour une sous-unité. (B) Sur une vue latérale du domaine membranaire du canal ouvert, la présence de MAM (ici en configuration *trans* dans le pontage horizontal) pendant la modélisation se traduit par le rétrécissement des crevasses observées dans la structure aux rayons X. Par soucis de clarté, la molécule MAM n'est pas représentée.

et bloquer le canal, suggérant que cette structure de l'état ouvert n'est probablement pas native [11].

Conscients de ces limitations, nous avons utilisé ces structures cristallographiques que nous avons insérées dans une bicouche lipidique pour mimer l'environnement physiologique du récepteur. Puis nous avons ajouté le MAM en créant les liaisons covalentes entre les maléimides et les cystéines (I328C et S345C) qui ont été ajoutées par mutation *in silico*. Après relaxation du système, nous avons effectué des simulations de dynamiques moléculaires pendant quelques nanosecondes.

L'examen des résultats de simulation montre qu'en absence de MAM, le pore n'est pas stable sous l'état ouvert. Les hélices TM2, censées former les parois du canal, se rapprochent en moins d'une nanoseconde les unes des autres, ce qui a pour conséquence de refermer le canal. Ce résultat corrobore l'étude publiée dans la littérature [11] et n'est donc pas cohérent avec les résultats expérimentaux qui montrent, au contraire, que le canal peut rester ouvert pendant quelques secondes. En revanche, la présence du MAM inséré dans l'état *trans* entre deux résidus I328C stabilise la structure dans l'état ouvert (figure 5A). Cette stabilisation résulte d'un léger rapprochement des hélices TM2 entre elles, ce qui a pour conséquence de combler les crevasses (figure 5B). En d'autres termes, nos résultats montrent que l'extension latérale des hélices alpha ouvre bien le canal, mais que l'amplitude de ce mouvement est moindre par rapport à celle prédite par les données cristallographiques.

De la même manière, les simulations de dynamiques moléculaires montrent que le MAM inséré en position verticale, entre I328C d'une sous-unité et S345C d'une autre, stabilise également le récepteur dans l'état ouvert tout en réduisant les crevasses (figure 5A). La simulation révèle également la présence d'un coude au milieu des hélices TM2 dans l'état ouvert du canal, proche de la glycine conservée, renforçant ainsi l'hypothèse d'un changement de structure des hélices TM2. Ces résultats qui combinent modélisation moléculaire et données expérimentales ont donc permis d'améliorer les structures aux rayons X, en proposant de nouveaux modèles plus pertinents.

Le contrôle des mouvements moléculaires du récepteur P2X a ainsi fourni plusieurs informations essentielles :

- il renseigne sur le type de mouvement induit par la lumière. Nous avons montré que les mouvements induits par la pince moléculaire n'étaient pas le fruit de mouvements forcés, mais plutôt qu'ils accompagnent des mouvements intrinsèques à la protéine, proches de ceux induits naturellement par l'ATP [9] ;
- le contrôle de ces mouvements moléculaires a apporté des données structurales, telles que la distance relative entre les résidus pontés ;
- enfin, il a permis d'affiner les structures existantes et de proposer de nouveaux modèles qui sont davantage en accord avec les données expérimentales.

Conclusion

L'utilisation de « pinces moléculaires » photoisomérisables a non seulement permis de contrôler l'activité d'un canal ionique avec une simple irradiation lumineuse de longueur d'onde appropriée, mais également de mettre en évidence des données inédites concernant les mouvements moléculaires impliqués dans son fonctionnement. Elles constituent le point de départ de nouvelles investigations moléculaires et physiologiques utilisant la lumière comme

stimuli non invasif, réversible et précis. Cette approche combinant plusieurs disciplines, notamment la chimie, la biologie et la physique théorique (pour la modélisation moléculaire), ouvre la voie au développement de techniques originales et innovantes, complémentaires aux outils traditionnels. Appliquée à d'autres cibles macrobiologiques, elle ouvre la porte à de nombreuses possibilités dans l'étude des phénomènes biologiques dynamiques et pourrait guider, *in fine*, la conception de nouvelles molécules thérapeutiques.

Références

- [1] Sauvage J.-P., Duplan V., Niess F., Systèmes moléculaires contractiles et extensibles : vers des muscles moléculaires, *L'Act. Chim.*, **2016**, 406, p. 13.
- [2] Szymanski W., Beierle J.M., Kistemaker H.A., Velema W.A., Feringa B.L., Reversible photocontrol of biological systems by the incorporation of molecular photoswitches, *Chem. Rev.*, **2013**, 113, p. 6114.
- [3] Volgraf M. *et al.*, Allosteric control of an ionotropic glutamate receptor with an optical switch, *Nat. Chem. Biol.*, **2006**, 2, p. 47.
- [4] Gorostiza P., Isacoff E.Y., Optical switches for remote and noninvasive control of cell signaling, *Science*, **2008**, 322, p. 395.
- [5] Wyart C. *et al.*, Optogenetic dissection of a behavioural module in the vertebrate spinal cord, *Nature*, **2009**, 461, p. 407.
- [6] Levitz J. *et al.*, Optical control of metabotropic glutamate receptors, *Nat. Neurosci.*, **2013**, 16, p. 507.
- [7] Tochitsky I. *et al.*, How azobenzene photoswitches restore visual responses to the blind retina, *Neuron*, **2016**, 92, p. 100.
- [8] Lemoine D., Habermacher C., Martz A., Mery P.F., Bouquier N., Diverchy F., Taly A., Rassendren F., Specht A., Grutter T., Optical control of an ion channel gate, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2013**, 110, p. 20813.
- [9] Habermacher C., Martz A., Calimet N., Lemoine D., Peverini L., Specht A., Cecchini M., Grutter T., Photo-switchable tweezers illuminate pore-opening motions of an ATP-gated P2X ion channel, *eLife*, **2016**, 5, p. e11050.
- [10] Hattori M., Gouaux E., Molecular mechanism of ATP binding and ion channel activation in P2X receptors, *Nature*, **2012**, 485, p. 207.
- [11] Heymann G. *et al.*, Inter- and intrasubunit interactions between transmembrane helices in the open state of P2X receptor channels, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2013**, 110, p. E4045.



T. Grutter



L. Peverini



C. Habermacher

Thomas Grutter (*auteur correspondant*) est directeur de recherche au CNRS et **Laurie Peverini**, chercheuse doctorante, au Laboratoire de Conception et Application de Molécules Bioactives, Université de Strasbourg*.

Chloé Habermacher, ancienne doctorante au Laboratoire de Conception et Application de Molécules Bioactives*, est chercheuse postdoctorante au Laboratoire de Neurophysiologie et Nouvelles Microscopies, Université Paris Descartes**.

* Laboratoire de Conception et Application de Molécules Bioactives (UMR 7199), Équipe de Chimie et Neurobiologie Moléculaire, Université de Strasbourg, Faculté de pharmacie, F-67400 Illkirch.
Courriel : thomas.grutter@unistra.fr

** Laboratoire de Neurophysiologie et Nouvelles Microscopies (Inserm UMR S1128), Équipe Physiologie des cellules NG2, Université Paris Descartes, F-75006 Paris.