

Axe principal: NBS

Axes secondaires :

Equipe structure et dynamique des ARN

+

<http://www.cgm.cnrs-gif.fr/fourmy/index.html>

Centre de Génétique Moléculaire UPR3404

Directeur BOCCARD Frédéric

<http://www.cgm.cnrs-gif.fr/>

Contact C'nano de l'équipe

FOURMY Dominique

dominique.fourmy@cgm.cnrs-gif.fr

Responsable d'équipe :

FOURMY Dominique

dominique.fourmy@cgm.cnrs-gif.fr

Membres permanents de l'équipe :

YOSHIZAWA Satoko

satoko.yoshizawa@cgm.cnrs-gif.fr

AUXILIEN Sylvie (à partir du 1^{er} Mai 2011)

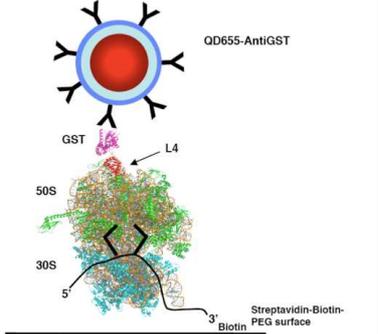
sylvie.auxilien@cgm.cnrs-gif.fr

• **Activités scientifiques de l'équipe :**

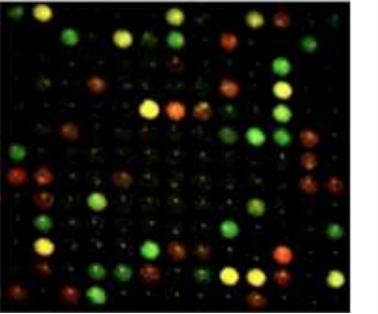
Notre groupe travaille à l'interface de plusieurs disciplines. Notre but est de combiner des outils de biophysique et de nanotechnologie pour comprendre comment marche un moteur moléculaire, le ribosome, fait d'ARN et de protéines. Cette machine moléculaire dynamique est capable d'engendrer des mouvements coordonnés essentiels pour une synthèse des protéines régulée, précise et efficace. Ces mouvements concernent les substrats et les facteurs s'associant au ribosome mais aussi les sous-unités ou domaines structuraux. Le ribosome est essentiel à la vie cellulaire et la caractérisation de sa fonction au niveau moléculaire aura un impact en biologie et médecine.

• **Recherche(s) et résultat(s) obtenu(s) dans les domaines d'action des nanosciences :**

Etude de la dynamique de la synthèse des protéines

 <p>Marquage d'un moteur moléculaire le ribosome par un quantum dot</p>	<p><i>Nous avons développé un système d'étiquetage du ribosome avec des quantum dots permettant leur suivi au niveau de la molécule unique. Les complexes ribosome-quantum dot sont actifs in vitro ce qui va permettre une étude de la dynamique de la synthèse des protéines.</i></p>
---	---

Synthèse digitale de protéines

 <p>Copyright CNRS-LIMMS Université de Tokyo Synthèse de protéines fluorescentes en chambres de PDMS (100 fL)</p>	<p><i>Nous avons réalisé la synthèse de protéines à partir de molécule d'ADN individuelles piégées dans des microchambres de PDMS de quelques dizaines de femtolitres. Cette technologie pourra déboucher sur la réalisation de puces à protéines de très haute densité.</i></p>
--	--

- **Programme de recherche :**

Zero-mode waveguides (ZMWs)

Des structures nanophotoniques appelées zero-mode waveguides (ZMWs) peuvent réduire le volume d'observation de 3 ordres de magnitudes comparativement à la microscopie confocale (échelle des zeptolitres). Cela permet de réaliser des expériences de fluorescence à échelle de la molécule unique avec des substrats marqués en concentration physiologique (micromolaire). Pendant un séjour de 3 ans au LIMMS (CNRS-UMI, Université de Tokyo) nous avons entre autre réalisé pour la première fois la synthèse de protéines à partir de molécule d'ADN individuelles piégées dans des microchambres de PDMS de quelques dizaines de femtolitres (Brevet CNRS, Kim et al., 2009, (brevet 1)) ; la synthèse de protéines membranaires dans des vésicules de quelques femtolitres ou bien en microchambres (Brevet CNRS-KAST, Osaki et al., 2009, (Brevet 2)). L'utilisation

des microchambres ou des ZMWs pour la synthèse des protéines respectivement à partir de molécules uniques d'ADN ou de ribosomes repose sur des principes communs. Nous sommes en train de mettre en place au laboratoire l'utilisation des ZMWs en collaboration avec l'équipe de Jacques Gierak du LPN (Marcoussis) qui les fabrique par la technique du FIB.

Etude de la dynamique de la synthèse des protéines

Nous utilisons la microscopie de fluorescence à l'échelle de la molécule unique (collaboration avec K. Perronet, P. Bouyer et N. Westbrook de l'Institut d'optique) afin d'étudier le mouvement du ribosome le long de l'ARNm. Nous avons développé un système d'étiquetage du ribosome avec des quantum dots permettant leur suivi. Nous combinons aussi une approche microfluidique et nanotechnologie. Cette expérience vise à observer la dynamique de la synthèse des protéines par le ribosome à l'échelle de la molécule unique. Notre rôle va de la conception des expériences sur le ribosome à une activité de bio-ingénierie pour des études à l'échelle de la molécule unique.

- **Références :**

- 1) Perronet K., Westbrook N., Bouyer P., Soler N., Fourmy D. and Yoshizawa S. Single molecule fluorescence detection of BODIPY-FL molecules for monitoring protein synthesis, (2007) **J. of Luminescence**, **127**, 264-268.
- 2) Mazauric M.H., Yeonee S., Yoshizawa S., Visscher K. and Fourmy D. Interaction of the HIV-1 frameshift signal with the ribosome. (2009) **Nucleic Acids Research**, 1-11.
- (3) Ota S, Yoshizawa S, and Takeuchi S. Microfluidic formation of monodisperse, cell-sized and unilamellar vesicles. **Angewandte Chemie (International ed.)** (2009) **48**, 6533-6537.

Actes de colloques à comité de lecture

- (1) Kim S.H., Yamamoto T., Fourmy D. and Fujii T. Trapping Escherichia coli cells in electroactive microwell array. The 5th International Conference on **Microtechnologies in Medicine and Biology** (MMB2009), 1/4/2009/ ~ 3/4/2009 Quebec City, Canada.
- (2) Kim S. H., Yamamoto T., Rondelez, Y., Fourmy D. and Fujii T. (2009) Electro-active microwell array for trapping and lysing single Escherichia coli cells. **MicroTAS2009**. 2, 1811-1813, November 1-5, 2009, Jeju, Korea
- (3) Kim, S. H. Yamamoto, T. Fourmy, D. Fujii, T. (2009). Confining Yeast cell into arrayed microchamber using dielectrophoresis. 28/5/2009 ~ 29/5/2009. page 78. 19th **Cheminas** Hiroshima. Japan.
- (4) Kumemura M.; Yoshizawa S.; Collard D. and Fujita H. (2009). Droplet formation and fusion for enzyme activity measurement by liquid dielectrophoresis. **Transducers'09**, USA.
- (5) Osaki T.; Yoshizawa S. and Takeuchi S. (2009). Lipid membrane capsules in a microfluidic device for in-vitro protein synthesis. **MicroTAS'09**, Korea.

(6) Ota T.; Yoshizawa S. and Takeuchi S. (2009). Generation of Monodisperse Cell-sized and Unilamellar Vesicles from a Microfluidic T-junction. **MicroTAS'09**, Korea.

Brevets:

(1) Kim S.H., Yoshizawa S., Takeuchi S., Fourmy D. and Fujii T. Protein Synthesis from Single DNA Molecules Trapped in Microchambers. (patent filed 2009.12.11 number of deposit 2009-281673 JAPAN, co application from Foundation For the promotion of Industrial Science and CNRS).

(2) Osaki T., Yoshizawa S., Takeuchi S., In-vitro protein synthesis in lipid membrane microcapsules. (patent filed 2009.10.31 number of deposit 2009-251538 2009-281673 JAPAN, co application from KAST, CNRS; CNRS DI 03278-01).

(3) Kim S.H., Yamamoto T., Fourmy D. and Fujii T. Electroactive microchamber arrays for performing single-cell manipulation and analysis in confined volume. (patent filed 2010.08.09 number of deposit 2010-178790 JAPAN, co application from Foundation For the promotion of Industrial Science and CNRS).

(4) Kawano R., Osaki T., Sasaki H., Takeuchi S., Yoshizawa S. Takinoue M. Apparatus and method for detecting target substance(s). (patent filed 2010.november, co application from KAST, CNRS).