

# Résumé/Abstract

## ÉTUDES DES MEMBRANES BIOLOGIQUES PAR RMN DU SOLIDE *in cellulo*.

La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) constitue une technique qui s'est révélée particulièrement efficace dans l'étude des macro-molécules biologiques *in situ*, voire même *in vivo*. Les premières applications ont d'abord concerné l'étude de petites molécules en solution puis, très rapidement, l'intérêt s'est déplacé vers l'analyse des protéines en solutions. Depuis quelques années, la RMN du solide en rotation à l'angle magique (MAS) est également apparue comme une technique permettant d'accéder aux informations structurales sur des protéines membranaires dans leurs membranes natives. Il est en effet établi, depuis de nombreuses années, que les deux constituants majeurs des membranes biologiques : lipides et protéines membranaires, sont intimement liés, et l'étude de leurs influences réciproques constitue une étape importante vers une compréhension plus complète des membranes biologiques dans leur ensemble.

Afin d'essayer d'apporter certains éléments d'informations quant à cette question, nous avons choisi un modèle particulier : la souche C43( $\lambda$ DE3), et son réseau de « membranes proliférantes » formé suite à la sur-expression de la sous-unité b de l'ATP synthase  $F_0F_1$  d'*E. coli*. L'étude de la formation de ce réseau, de l'implication de la sous-unité b (par RMN MAS du  $^{13}C/^{15}N$ ), et des lipides le constituant (par spectrométrie de masse et RMN du  $^{31}P$ ) a permis d'obtenir un certain nombre d'informations quant à l'importance de chacune de ces composantes dans la mise en place et la stabilisation de celui-ci.

De plus, au cours de ce projet, l'utilisation combinée de la RMN du  $^2H$  et du MAS s'est également révélée comme une technique particulièrement adaptée dans l'étude des propriétés dynamiques des membranes de cellules entières (et vivantes) selon diverses conditions de croissance.

De fait, les différentes méthodes développées et/ou utilisées au cours de projet pourraient également s'avérer utiles dans l'étude de membranes biologiques diverses et variées, que ce soit du point de vue protéique ou lipidique.

## "IN CELL" SOLID-STATE NMR STUDIES OF BIOLOGICAL MEMBRANES.

Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy has revealed efficient for *in situ* (and even *in vivo*) structural studies of biological macro-molecules. The first studies focused on small soluble molecules, and, quickly, the interest shifted toward the study of soluble proteins. For few years now, magic-angle spinning (MAS) solid-state NMR appeared as a technique of choice in order to obtain structural information about membrane proteins in their native environment (biological membranes). It is now well established that the two major components of biological membranes, that is to say : lipids and membrane proteins, are intimately connected, and the study of their mutual influences constitute a crucial step in the better comprehension of biological membranes as a whole.

In order to bring some clues regarding this question we have chosen a particular system : the strain C43( $\lambda$ DE3) and its network of "proliferating membranes", produced after the over-expression of the b subunit of the  $F_0F_1$  ATP synthase of *E. coli*. The analysis of the organisation of this network, and the involvement of the b subunit (via MAS NMR  $^{13}C/^{15}N$ ) and lipids (via Mass Spectrometry and MAS NMR  $^{31}P$ ) allowed us to obtain some information regarding the importance of these two components in the establishment and stabilisation of this membrane network.

Moreover, during this project, the combination of  $^2H$  NMR and MAS appeared as a technique particularly suited for the study of biological membranes dynamics of whole cells (living) under various growth conditions.

Also, the methods used and/or developed during this project could be beneficial in the study of various biological membranes, from a proteic but also lipidic stand point.