

Caractérisation de l'hétérogénéité structurale de l'ATPase AAA p97 par analyse d'images de particules isolées de cryo-microscopie électronique

Driss Mountassif¹, Lucien Fabre¹, Slavica Jonic², Isabelle Rouiller^{1*}

1- McGill University, Department of Anatomy and Cell Biology, Montreal, Canada

2- IMPMC, Sorbonne Universités - CNRS UMR 7590, UPMC Univ Paris 6, MNHN, IRD UMR 206, Paris, France

L'ATPase AAA p97 dirige plusieurs processus cellulaires (ERAD, organisation des membranes, régulation du cycle cellulaire...). Les modèles en vigueur proposent que p97 agisse comme un moteur moléculaire qui, en transformant l'énergie de l'ATP en changements de conformations, induit le remodelage ou la translocation de ses substrats.

Nos études visent à comprendre l'hétérogénéité structurale de p97 en solution, sa dépendance des nucléotides et de résoudre à haute résolution des conformations intermédiaires. Dans ce but, nous avons utilisé la cryo-microscopie électronique (cryo-ME) combinée avec des approches d'analyse d'images qui discrétisent la flexibilité, généralement continue (e.g., ML3D pour « 3D maximum likelihood ») et celles qui considèrent explicitement la forme continue de la flexibilité (e.g., HEMNMA pour « Hybrid Electron Microscopy Normal Mode Analysis »).

Cette étude montre une synergie entre les mouvements de différents domaines de p97. De plus, elle montre que l'équilibre entre plusieurs conformations est affecté par la présence de différents nucléotides et par des mutations induisant des maladies chez l'homme. Surtout, notre étude montre le potentiel de la cryo-ME et les besoins émergents de méthodes et d'outils d'analyse d'images pour l'étude de la dynamique de larges complexes protéiques, nécessaire à la compréhension de leur comportement *in vivo*.

Characterization of structural heterogeneity of ATPase AAA p97 by analysis of images from single particle cryo-electron microscopy

The AAA ATPase p97 drives several cellular processes (ERAD, membrane organisation, cell cycle regulation ...). Current models propose that p97 acts as a molecular motor which, by transmitting energy from ATP to conformational changes, remodels or translocates substrates.

Our studies aim at understanding and characterisation p97 structural heterogeneity in solution and its dependence to nucleotides as well as determining the 3D structure of p97 in different conformations at high resolution. For this purpose we combined cryo-electron microscopy (cryo-EM) with image analysis including discrete-flexibility methods such as 3D maximum likelihood (ML3D) and methods that consider the continuous form of flexibility such as Hybrid Electron Microscopy Normal Mode Analysis (HEMNMA).

This study shows coordination of the different domains of p97. It shows that the equilibrium between different conformations is affected by the nucleotides and by point mutations in p97 which are associated with human diseases. Most importantly, this study shows the potential of cryo-EM and the emerging needs for new tools and image analysis methods for the study of the dynamics of large protein complexes. Understanding the dynamics of protein complexes is essential for understanding their behavior *in vivo*.