

Communications cellulaires

M. Jean-Pierre CHANGEUX, membre de l'Institut
(Académie des Sciences), professeur

A. COURS DE LA CHAIRE DE COMMUNICATIONS CELLULAIRES

Le cours de l'année 1994 est le premier d'une nouvelle série dont le propos est d'examiner les articulations entre les multiples niveaux d'intégration successifs et de complexité croissante au sein de l'encéphale de l'homme, du moléculaire au cognitif. Il a été consacré à l'*Architecture fonctionnelle des récepteurs de neuromédiateurs* et subdivisé en deux chapitres portant successivement sur le concept de récepteur — protéine allostérique membranaire et sur les récepteurs-canaux à quatre hélices transmembranaires.

Denis Diderot dans les « Pensées sur l'interprétation de la nature » (1753-1754) écrit que « l'observation recueille les faits, la réflexion les combine, l'expérience vérifie les résultats ». Diderot anticipe la notion de « modèle », objet de pensée qui constitue une représentation d'une réalité extérieure sur laquelle le scientifique se penche. Il montre également que l'expérience fait passer de l'observation d'un phénomène à l'explication rationnelle de celui-ci et à la compréhension du mécanisme sous-jacent.

Le concept d'agent pharmacologique se dégage progressivement, dans la Grèce antique, de la « médecine surnaturelle » des Mésopotamiens et Egyptiens par la recherche de remèdes efficaces dans le monde naturel, en particulier dans les plantes. La maladie est initialement perçue comme punition divine et la *catharsis* purifie les « démons » intérieurs en les chassant du corps. Le *pharmacon* principe actif de la plante qui guérit est attribué lui-même à un démon qui entraîne la catharsis. Avec l'apparition de médecins professionnels distincts de la caste des prêtres ainsi qu'avec la coexistence, dans la Cité, de plusieurs écoles de pensées s'accompagnant du débat public, se développe la notion de diagnostic, de traitement et d'examen critique des résultats du traitement. Paracelse introduit, à la Renaissance, le concept de *principe actif* et de *dose* efficace, mais il voit encore dans l'effet curatif une

« signature » providentielle. Le développement de la chimie avec Lavoisier conduit à l'identification de la substance chimique active. Claude Bernard analyse dans ses « Leçons sur les substances toxiques et médicamenteuses » de 1857 leur mode d'action. Sur l'exemple du curare, il « dissèque » l'inhibition de la motricité volontaire par le poison et « localise » l'effet toxique au niveau de l'« action » des nerfs moteurs sur le muscle. Mais c'est Vulpian qui conclura que le curare « interrompt la communication » entre nerf et muscle. Inspiré par les travaux de Claude Bernard, John Newport Langley (1905-1906) montre que la nicotine provoque la contraction du muscle et que le curare bloque son effet. L'une et l'autre se fixent de manière exclusive au niveau d'une « substance réceptrice » hypothétique qui diffère de la « substance qui se contracte ». Au même moment, Elliott (1905) introduit la notion de neuromédiateur « stimulant chimique libéré à chaque occasion quand l'impulsion arrive à la périphérie ». Avec Loewi et avec Dale, la « substance réceptrice » devient le récepteur d'un neuromédiateur, dans le cas du curare il s'agit du récepteur de l'acétylcholine.

L'analyse quantitative des courbes dose-réponse des effets de la nicotine et du curare débute avec A.V. Hill (1910) qui propose un modèle très voisin de celui introduit par V. Henri (1903) et par Michaelis et Menten (1913) pour l'action des enzymes. L'hypothèse centrale est que la réponse est proportionnelle à la formation du complexe récepteur (enzyme) — effecteur (substrat) qu'exprime la loi d'action de masse. Dans le cas du récepteur pharmacologique, le complexe produit la réponse, par exemple l'ouverture d'un canal ionique ; dans le cas de l'enzyme le complexe est transformé en produit et l'enzyme régénéré. Le modèle du récepteur-enzyme est explicitement utilisé par Del Castillo et Katz (1957), il l'est encore par la plupart des électrophysiologistes.

En 1961, le travail sur des enzymes régulateurs bactériens — désaminase de la L-thréonine et transcarbamylyase de l'aspartate — met en relief trois groupes de faits : 1) l'antagonisme « en apparence » compétitif entre deux composés de structure « stérique » différente : le substrat du site actif et le produit final de la chaîne métabolique qui fait comme effecteur régulateur par rétroaction négative ; 2) la présence d'effets coopératifs pour la liaison du substrat et/ou de l'effecteur régulateur ; 3) l'abolition par des méthodes chimiques (réactifs de -SH) ou physiques (chauffage à 50 °C) de la sensibilité au signal régulateur sans perte d'activité enzymatique, mais découplage concomitant des effets coopératifs (désensibilisation). Ces données sont interprétées sur la base d'un modèle qui postule que deux catégories de sites topographiquement distincts interviennent dans la liaison spécifique du substrat et du signal régulateur et que leur interaction ne s'effectue pas directement par empêchement stérique, mais est *indirecte* ou *allostérique* (Changeux 1961 ; Monod et Jacob, 1961 ; Gerhart and Pardee, 1962). Une transition conformationnelle, appelée transition allostérique, assurerait le couplage entre sites

distincts. Dans le texte de 1963 (Monod, Changeux et Jacob, 1963) celle-ci était envisagée comme résultant d'un ajustement induit (induced fit) entraîné par la liaison de l'effecteur régulateur et/ou du substrat (cf. Koshland, 1959) qui se manifestait par un changement de l'état d'agrégation de la molécule protéique. Le texte de 1965 (Monod, Wyman et Changeux, 1965) adopte un point de vue radicalement différent : 1) la transition allostérique au lieu d'être « induite » par la liaison des ligands est supposée pré-exister à celle-ci sous la forme d'un équilibre conformationnel $R \rightleftharpoons T$ entre un état relâché (R) actif et un état (T) inactif ; 2) la molécule de protéine ne change pas d'état d'agrégation lors de la transition ; celle-ci est supposée être composée de sous-unités identiques organisées en « oligomère » possédant au moins un axe de symétrie (cristal fermé) et la transition conformationnelle est supposée altérer les relations entre sous-unités (contrainte quaternaire) tout en conservant les propriétés de symétrie de la molécule ; 3) l'affinité d'un (ou de plusieurs) ligands change lorsque la transition a lieu d'un état vers l'autre. En d'autres termes, la régulation a lieu par déplacement d'un équilibre conformationnel pré-existant en faveur de l'état pour lequel le ligand possède l'affinité la plus élevée. En conséquence de quoi, on peut distinguer une fonction d'état R et une fonction de liaison T qui expriment respectivement la fraction de protéine dans l'état R et la fraction de sites occupés par le ligand. Cette propriété distingue, sans ambiguïté, ce modèle « concerté » (sélectif) de tout autre modèle (instructif) fondé sur l'induction du changement conformationnel par le ligand (Koshland, Nemety, Filmer, 1966).

Les travaux de structure effectués au cours des décennies, qui ont suivi la proposition du modèle « concerté » de 1965, confirment, d'une manière générale, sa validité (voir Perutz, 1989). La *transcarbamylase de l'aspartate*, étudiée par exemple, par Lipscomb, est un hexasomère symétrique formé de deux trimères catalytiques et de trois dimères régulateurs ; ses transitions conformationnelles entre états R et T s'effectuent suivant un schéma « à pignons multiples » ; la sous-unité régulatrice se subdivise en « domaines » spécialisés possédant une autonomie tertiaire engagée dans la liaison de l'effecteur allostérique, dans la liaison du Zn^{++} ou dans l'interaction avec les autres sous-unités ; la conversion de l'état R en état T engage la rupture de liaisons hydrogènes entre deux sous-unités catalytiques ; les sites catalytiques sont situés à la jonction entre sous-unités et leur structure change de l'état T (site actif élargi n'accommodant pas le substrat) à l'état R (site actif étroit propice à la liaison du substrat).

La *phosphofructokinase* est un tétramère symétrique, possédant trois axes d'ordre 2 perpendiculaires (p, q, r), dont les quatre sites catalytiques et les quatre sites régulateurs sont tous situés à l'interface entre sous-unités ; lors de la transition allostérique une paire de sous-unités « tourne » rapidement d'environ 7° autour de l'axe de symétrie p entraînant une réorganisation du site actif.

L'hémoglobine est de toutes les protéines allostériques étudiées la mieux connue. Tétramère symétrique [2α ; 2β], la molécule inclut quatre hèmes dont la distance (entre atomes de fer) est d'environ 25-33 Å. Sauf dans le cas de l'hémoglobine de lamproie, la transition conformationnelle n'engage pas de changement d'état d'agrégation de la molécule protéique. Celle-ci se présente comme la rotation du dimère $\alpha_1\beta_1$ par rapport au dimère $\alpha_2\beta_2$ d'environ 12-15° accompagnée de la translation d'un dimère relatif à l'autre de 0,8°. Le détail de la « commutation quaternaire » qui assure le couplage entre hèmes par l'intermédiaire de l'interface entre sous-unités est connu à l'acide aminé près. L'acide 2-3 phosphoglycérique est un effecteur allostérique de l'hémoglobine qui se fixe à raison d'une molécule par tétramère dans la crevasse centrale de la protéine ; les deux sous-unités β forment un site de liaison pour le 2-3 phosphoglycérate dans la forme T mais pas dans la forme R ; l'histidine HC₃ joue un rôle critique dans l'effet Bohr en donnant une liaison hydrogène à l'aspartate FG1 dans la forme T et en acceptant une liaison hydrogène dans la forme R. La principale déviation par rapport au modèle concerté serait le fait, selon Ackers et Hazzard (1993), d'une quantité significative d'états hybrides qui apparaîtrait lors de l'oxygénation de la molécule. Cette présence est cependant controversée car les expériences de Ackers et Hazzard sont faites à très fortes dilutions en protéine, très éloignées des concentrations présentes dans le globule rouge.

Ni le texte de 1963, ni celui de 1965 sur les protéines allostériques ne mentionnent la possibilité que la transduction chimioélectrique fasse intervenir des mécanismes allostériques au niveau des membranes excitables. Cette idée est mentionnée, pour la première fois, dans le dernier chapitre de la thèse de Changeux (1964) et développée par celui-ci dans des textes de 1967 (avec le physicien Ch. Kittel) et de 1969 (avec le physiologiste T. Podleski).

Deux idées sont avancées :

1. La transduction du signal chimique en signal électrique fait intervenir une protéine transmembranaire qui comprend un domaine « récepteur » fixant le neuromédiateur et un domaine « biologiquement actif » comprenant le canal ionique : leur couplage est assuré par une transition conformationnelle de la molécule.

2. Les effets coopératifs observés dans la réponse au neuromédiateur résultent, soit d'une organisation en réseau illimité des éléments récepteurs, soit de leur association en oligomère fini transmembranaire possédant un axe de symétrie perpendiculaire au plan de la membrane.

Le récepteur de l'acétylcholine est le premier récepteur pharmacologique de neuromédiateur lié à un canal ionique à avoir été isolé et identifié chimiquement dès 1970 (Changeux et coll., 1970). Deux facteurs ont joué un rôle décisif dans cette identification :

1. L'utilisation de l'organe électrique de poisson (Gymnote, Torpille) (Nachmansohn) comme source exceptionnellement riche et homogène de synapses cholinergiques nicotiques et donc de récepteur (plusieurs grammes par kg d'organe électrique de Torpille) et 2) l'emploi d'une toxine α de venin de serpent (Bungare, Cobra...) (Lee) comme marqueur hautement spécifique du site récepteur. D'autre part, l'organe électrique se prête à la « réduction » de la réponse physiologique du niveau cellulaire au niveau moléculaire en permettant de suivre, à chaque étape, la conservation des propriétés caractéristiques de celle-ci. L'électroplaque isolée offre les moyens de suivre la réponse aux agents pharmacologiques par l'enregistrement de propriétés électrophysiologiques (Schoffeniels et Nachmansohn, 1957). Ce système cellulaire a permis de démontrer que la pharmacologie de l'électroplaque de poisson est de type nicotinique et très voisine de celle de la jonction neuromusculaire chez l'homme ; l'électroplaque a également conduit à la découverte de marqueurs d'affinité spécifique du récepteur nicotinique, comme par exemple, le p-(triméthylammonium) benzene diazonium difluoroborate (TDF) (Changeux, Podleski et Wofsy, 1967) et le 4-(N-maleimido) phenyl triméthylammonium (MBTA) (Karlín and Winnick, 1968). Une étape fondamentale du long processus d'identification du récepteur a été la « réduction » du système du niveau cellulaire au niveau membranaire. En effet, des fragments membranaires purifiés à partir d'homogénats d'organe électrique se referment sur eux-mêmes en « microsacs », et conservent la propriété de répondre aux agonistes nicotiques, en l'absence de tout apport extérieur d'énergie, par un changement de perméabilité ionique mesuré *in vitro* par une méthode de filtration à l'aide de Na^+ ou K^+ radioactifs (Kasai et Changeux, 1970).

La toxine de bungare bloque la réponse de l'électroplaque isolée et celle de microsacs excitables aux agonistes cholinergiques, elle inhibe également la liaison de décaméthonium radioactif à une protéine extraite de microsacs excitables par un détergent non dénaturant (Changeux, Kasai et Lee, 1970). Cette protéine se sépare de l'acétylcholinestérase et peut être purifiée par chromatographie d'affinité, sans perdre la capacité de lier la toxine α et les effecteurs nicotiques (Olsen et coll. 1972). Injectée à un lapin, elle déclenche une paralysie auto-immune et l'immunsérum bloque la réponse de l'électroplaque aux agonistes cholinergiques (Lindstrom et Patrick, 1973 ; Sugiyama et coll., 1973). La protéine purifiée réintégrée à des vésicules lipidiques artificielles confert à celles-ci une réponse ionique aux agents nicotiques semblable à celle de l'électroplaque ou des microsacs (Hazelbauer et Changeux, 1974 ; Michaelson et Raftery, 1974 et autres). De masse moléculaire proche de 300 000 daltons, la protéine réceptrice est un hétéropentamère 2α , 1β , 1γ , 1δ (Weill et coll., 1974 ; Raftery et coll., 1975) qui contient tous les éléments nécessaires à la transduction du signal chimique en réponse physiologique. La séquence chimique partielle (Raftery et coll., 1980) et la séquence complète déduite des ADN complémentaires (Noda et coll., 1982, 1983 ; Claudio et coll., 1983 ; Devillers-Thiéry et coll., 1983) révèle

d'importantes identités de séquence entre sous-unités (35-50 %) suggérant une évolution des gènes par duplications successives à partir d'un gène ancestral commun ainsi qu'une pseudo-symétrie de rotation de la molécule autour d'un axe perpendiculaire au plan de la membrane qui s'accorde avec les images de microscopie électronique (Cartaud et coll., 1973 ; Nickel et Potter, 1977 ; Brisson et Unwin, 1985 ; Unwin, 1993). L'analyse de l'« hydropathie » des acides aminés distribués le long des chaînes $\alpha\beta\gamma\delta$ révèle plusieurs domaines caractéristiques : un grand domaine hydrophile NH₂-terminal exposé à l'espace synaptique, un petit domaine hydrophile COOH-terminal exposé au cytoplasme et quatre segments hydrophobes supposés transmembranaires (Claudio et coll., 1983 ; Devillers-Thiéry et coll., 1983 ; Noda et coll., 1983). Des travaux de chimie protéique ainsi que l'identification d'acides aminés qui contribuent au site actif et au canal ionique confirment le bien-fondé de ce schéma, qui reste cependant encore hypothétique.

Le marquage des acides aminés entrant dans la composition des deux sites actifs présents par molécule de récepteur réalisé avec l'aide des ligands d'affinité (MBTA, DDF, l'analogue diméthyle du TDF et d'autres marqueurs) met en évidence au niveau de la chaîne α trois boucles A (Trp 86, Tyr 93), B (Trp 149, Tyr 151) C (Tyr 190, Cys 192-193, Tyr 198) (Galzi et coll., 1991). Les principaux acides aminés marqués sont de type aromatique créant une « corbeille électro-négative » complémentaire de l'ammonium quaternaire. Une quatrième boucle D portée par les chaînes non- α (δ Trp 57, γ Trp 55) participe à la structure des deux sites actifs. Les données sont en accord avec la notion que ces deux sites ne sont pas pharmacologiquement identiques et se trouvent situés, comme dans le cas des protéines allostériques classiques, à l'interface entre sous-unités.

Le marquage covalent du site de haute affinité des bloquants du canal à l'aide de la chlorpromazine (Giraudat et coll., 1986, 1987) et du triphénylméthylphosphonium (Hucho et coll., 1986) met en évidence la contribution du segment hydrophobe MII dans l'organisation du canal ionique. Ses parois seraient bordées par les segments MII provenant des cinq sous-unités organisés de manière pseudo-symétrique autour de l'axe de rotation d'ordre 5 (Hucho et coll., 1986 ; Giraudat et coll., 1987). Des expériences de mutagenèse dirigée effectuées initialement par les groupes de Numa et Sakmann, puis par le nôtre, en collaboration avec celui de Bertrand à Genève (sur la sous-unité $\alpha 7$), ont confirmé le rôle de MII dans le transport des ions. Ces travaux ont d'autre part singularisé : 1) la contribution de deux anneaux (Leu 254-255 et Glu 237) dont la mutation altère sélectivement la perméabilité aux ions Ca⁺⁺, tout en préservant celle pour les ions Na⁺ et K⁺ ; 2) celle de trois anneaux (Val 251 — Glu 237 — Pro 236) dans la conversion de la sélectivité ionique de cationique en anionique et 3) l'importance d'anneaux équatoriaux (Leu 247, Val 251) dans la fermeture du canal ionique dans l'état désensibilisé.

La distance entre sites de liaison des effecteurs cholinergiques et site de haute affinité des bloquants du canal est de 21-35 Å, l'ordre de grandeur de la distance mesurée entre hèmes dans hémoglobine. A cet égard, l'interaction entre ces deux sites entre dans la catégorie des interactions *allostériques* suivant la définition générale de 1963. La présence d'effets coopératifs positifs entre sites de liaison de l'acétylcholine, le caractère discret de tout-ou-rien de l'ouverture du canal ionique, la structure quaternaire oligomérique de la molécule de récepteur, entrent dans le cadre du modèle classique concerté de 1965. Toutefois, l'organisation pseudosymétrique de la molécule avec un seul axe de rotation perpendiculaire au plan de la membrane, l'interconversion en cascade de la molécule entre plusieurs états conformationnels, confèrent des propriétés non conventionnelles, vraisemblablement liées à la disposition transmembranaire de la molécule réceptrice.

La plupart de ces propriétés se rencontrent avec les récepteurs du GABA_A, de la glycine et de la sérotonine (5HT₃) qui composent, avec le récepteur nicotinique, une superfamille de récepteurs liés à des canaux ioniques. Un schéma hypothétique d'évolution des récepteurs de cette famille peut être proposé qui met en relief, dans une première étape, l'acquisition de la symétrie : la genèse d'oligomères symétriques assurant la formation d'un canal transmembranaire, la coopérativité, la flexibilité et donc la transduction chimioélectrique, puis, dans une seconde étape, une rupture partielle de symétrie par formation combinatoire d'hétéro-oligomères entraînant une diversification fonctionnelle considérable.

J.-P. C.

B. COMPTE RENDU DE L'ACTIVITÉ DU LABORATOIRE DE COMMUNICATIONS CELLULAIRES

I. ORGANISATION FONCTIONNELLE DES RÉCEPTEURS NICOTINIQUES PÉRIPHÉRIQUES ET CENTRAUX

1. *Chimères fonctionnelles entre le récepteur nicotinique neuronal $\alpha 7$ et le récepteur sérotoninergique 5HT₃* (Coll. avec D. et S. BERTRAND, Université de Genève) (EISELÉ et coll., 1993a)

Le récepteur ionique neuronal $\alpha 7$ et le récepteur sérotoninergique 5HT₃ sont des récepteurs liés à des canaux ioniques dont les séquences très homologues présentent des distributions semblables de domaines hydrophiles et hydrophobes et qui possèdent en commun les réactions d'activation et de désensibilisation (Eiselé et coll., 1993a). Toutefois, ces deux récepteurs homologues diffèrent par la pharmacologie de leur site récepteur et par les

propriétés de leur canal ionique. Le premier est activé par l'acétylcholine et par la nicotine et bloqué par la dihydro- β -érythroidine et l' α -bungarotoxine, le second est activé par la sérotonine, bloqué par des concentrations nanomolaires de d-tubocurarine mais est insensible à l' α -bungarotoxine. Le canal du récepteur $\alpha 7$ est perméable aux ions calcium et potentialisé de manière allostérique par les ions Ca^{++} externes alors que le canal du récepteur 5HT_3 n'est pas perméable aux ions Ca^{++} mais bloqué par ceux-ci. Parmi les chimères contenant le domaine N-terminal de sous-unité $\alpha 7$ et le domaine C-terminal du récepteur 5HT_3 avec comme point de jonction les acides aminés « canoniques » W173, Y194, V201, L208 et P217 (numérotation $\alpha 7$), toutes sauf une (W173) lient la bungarotoxine- α radioactive de manière sensible à la nicotine mais deux seulement présentent une réponse ionique à la nicotine V194 (réponse faible) et V201 (réponse grande) : la chimère $\alpha 7$ -V201- 5HT_3 est, comme $\alpha 7$, activée par l'acétylcholine et la nicotine, elle est bloquée par l' α -bungarotoxine mais pas par la d-tubocurarine ; la réponse ionique est bloquée par les ions Ca^{++} comme le canal 5HT_3 mais, par contre, elle est potentialisée par les ions Ca^{++} externes comme l'ouverture du canal $\alpha 7$. Ces résultats permettent d'assigner le site du neuromédiateur et le site allostérique activateur du Ca^{++} au grand domaine hydrophobe amino-terminal et le canal ionique au reste de la séquence. Ils soulignent la remarquable conservation de l'organisation tridimensionnelle de la molécule protéique qui permet à des domaines provenant de récepteurs différents d'interagir de manière efficace.

2. Des mutations à deux niveaux différents dans le domaine M2 du canal altèrent la perméabilité au Ca^{++} du récepteur nicotinique neuronal $\alpha 7$ (Coll. avec D. et S. BERTRAND, Université de Genève) (BERTRAND et coll., 1993)

Le récepteur ionique neuronal et, en particulier, celui formé par la sous-unité $\alpha 7$, présente une perméabilité pour l'ion Ca^{++} ($\text{pCa}/\text{P}_{\text{Na}}$ 10) bien supérieure à celle du récepteur musculaire ($\text{pCa}/\text{P}_{\text{Na}}$ 0.1-0.3) (voir Mulle et coll., 1992). Une première série de mutations introduites dans $\alpha 7$ au niveau de l'anneau intermédiaire de glutamate (E237) situé à l'extrémité cytoplasmique de M_2 (site 1) réduit la perméabilité calcique sans altérer les propriétés d'activation et de désensibilisation. Un second ensemble de mutations au niveau des deux anneaux adjacents de leucine situés à l'extrémité synaptique de M_2 (Leu 254, Leu 255) (site 2), abolit également le transport de Ca^{++} , mais entraîne, en même temps, un accroissement d'affinité pour l'acétylcholine de 10 à 100 fois par rapport au WT, une augmentation du coefficient de Hill (nH 4.6-5.0) de la courbe-dose réponse pour l'acétylcholine, un ralentissement de la cinétique d'activation et une réduction de l'amplitude de la désensibilisation. Les mutations au niveau tant du site 1 que du site 2 affectent sélectivement la perméabilité au Ca^{++} sans altérer le transport de Na^+ et de K^+ . Ces données (Bertrand et coll., 1993) sont en accord avec le schéma suivant lequel la sélectivité ionique du canal du récepteur neuronal serait moins grande que

celle du récepteur musculaire. La mutagénèse de résidus définis dans M_2 entraîne une restriction de cette sélectivité ionique par l'introduction de « barrières » qui repoussent les ions Ca^{++} . D'autre part, la région de M_2 proche de l'espace synaptique paraît plus directement engagée dans l'ouverture rapide du canal par l'acétylcholine que la région cytoplasmique.

3. *Effets voltage-dépendant de la chlorpromazine sur le récepteur nicotinique périphérique de la lignée musculaire Sol 8* (BENOÎT et CHANGEUX, 1993)

Le réexamen par la méthode du patch-clamp de l'action de la chlorpromazine sur les canaux ouverts par l'acétylcholine, révèle deux effets distincts (Benoit et Changeux, 1993). D'abord, la chlorpromazine décroît la fréquence d'ouverture des canaux d'une manière indépendante du potentiel membranaire et qui s'accorde avec un accroissement de la désensibilisation du récepteur par la chlorpromazine. D'autre part, la chlorpromazine diminue le temps moyen d'ouverture des canaux ouverts par l'acétylcholine d'une manière qui dépend du voltage, comme on s'y attend si la chlorpromazine bloque le canal ouvert en se fixant à un site présent dans le canal. Cette dernière conclusion valide l'usage qui a été fait de la chlorpromazine pour identifier le canal ionique (Giraudat et coll., 1986).

4. *Spectroscopie Raman de fragments de membranes riches en récepteur nicotinique en présence d'acétylcholine et de d-tubocurarine* (Coll. avec D. ASLANIAN, Université Pierre et Marie Curie) (ASLANIAN et coll., 1993)

L'analyse de la vibration de la bande amide I de la liaison peptidique révèle que la structure secondaire des fragments de membrane riches en récepteur (débarrassés de protéine 43K) comprend 47 % d'hélice α , 25 % de feuillets β , 18 % de tours et 11 % de structure non définie. En présence de carbamylcholine les données de structure secondaire ne changent pas, par contre, la d-tubocurarine entraîne des modifications sensibles dans région de la bande amide I qui peuvent refléter des contributions différentes des hélices α et des tours dans la structure secondaire. La spectroscopie Raman apporte également des informations sur les tyrosines qui, dans la membrane en l'absence d'effeteur, sont largement exposées au milieu aqueux, sur des tryptophanes qui sont « enfouis » dans les membranes natives et qui en présence de d-tubocurarine ou de carbamylcholine s'exposeraient au milieu. La conformation des ponts disulfures ne change pas en présence de carbamylcholine mais se réorganise de manière significative en présence de d-tubocurarine. La spectroscopie Raman offre des informations très nouvelles et encore largement inexploitées sur la structure secondaire du récepteur nicotinique membranaire et sur ses changements en présence d'antagonistes et d'agonistes à l'équilibre (Aslanian et coll., 1993).

5. *Cristallisation et analyse cristallographique préliminaire d'une isolectine* (Coll. Immunologie Structurale, Institut Pasteur et Immunocytologie Appliquée, Compiègne) (EISELÉ et coll., 1993b)

L'isolectine B₄ de *Vicia villosa* est spécifique de l'épitope Tn, Gal N Ac α -O-Ser/Thr, l'un des antigènes les plus spécifiques des carcinomes qui se trouve être un précurseur des antigènes sanguins MN. Des cristaux d'isolectine B₄ ont été obtenus en présence de N-acetyl-D-galactosamine dans des conditions contrôlées de manière automatique à l'aide du système motorisé Pipex (Eiselé, 1993). Les cristaux sont tétragonaux et du groupe de symétrie P₄₁ (ou P₄₃) avec a = 92,3 Å, C = 151,7 Å et un seul tétramère par unité asymétrique. Les cristaux diffractent les rayons X jusqu'à une résolution de 2.8 Å.

II. RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES DU RÉCEPTEUR NICOTINIQUE MUSCULAIRE

1. *Utilisation d'un vecteur adénoviral pour analyser in vivo et in vitro la régulation d'expression des gènes du récepteur nicotinique musculaire par l'activité électrique* (Coll. L. et M. PERRICAUDET, Génétique des Virus oncogènes, Institut Gustave Roussy, Villejuif) (BESSEREAU et coll., 1994)

L'adénovirus a été choisi comme vecteur permettant d'étudier l'expression des gènes du récepteur dans les mêmes conditions *in vivo* et *in vitro*. Le gène de la luciférase a été placé sous le contrôle de fragments du promoteur sauvage ou muté de la sous-unité α_1 dans un vecteur adénoviral (adénovirus test). Les souris ont été co-infectées par injection intramusculaire de l'adénovirus et d'un adénovirus témoin contenant comme gène rapporteur le gène de la chloramphénicol acétyltransférase sous le contrôle du promoteur du gène de l'actine dont l'expression est insensible à l'activité électrique. Les résultats obtenus (Bessereau et coll., 1994) montrent que si les deux Boîtes E proximales (éléments liant les facteurs de la famille MyoD) sont requises pour l'expression « muscle spécifique » du gène α_1 , une seule est nécessaire (la plus proximale) pour l'accroissement d'activité transcriptionnelle entraîné par la dénervation. Des résultats parallèles sont obtenus avec les cellules musculaires cultivées *in vitro* lorsque l'activité électrique est bloquée par la tétrodontoxine. Ces résultats soulignent l'importance des facteurs myogéniques dans la régulation par l'activité électrique et illustrent les facilités offertes par les vecteurs adénoviraux dans l'analyse de la régulation transcriptionnelle.

2. *Régulation par l'activité électrique de la phosphorylation de la myogénine par la protéine kinase C* (MENDELZON et coll., 1994)

La phosphorylation de la myogénine est suivie par marquage au ³²P et immunoprécipitation avec des anticorps anti-myogénine. Dans les myotubes où

l'activité électrique spontanée est importante, la myogénine est phosphorylée à un haut niveau alors que l'inhibition de l'activité électrique par la tétrodoxine (TTX) réduit le niveau de phosphorylation de la myogénine. L'activité de la protéine kinase C décroît en présence de TTX. De plus, la phosphorylation de la myogénine diminue en présence d'un inhibiteur spécifique de la protéine kinase C (GF 109 203 X) et celui-ci a le même effet que la TTX sur l'expression du récepteur nicotinique. Les actions de ces deux agents pharmacologiques ne sont pas additives suggérant un mode d'action commun. D'autre part, la myogénine phosphorylée ne se lie plus aux Boîtes E. Ces résultats (Mendelzon et coll., 1994) suggèrent un modèle suivant lequel la répression de la biosynthèse du récepteur par l'activité électrique résulte, au moins en partie, de la phosphorylation de la myogénine par la protéine kinase C.

3. *Plasticité du Corps de Golgi dans la fibre musculaire et spécialisation au niveau de la jonction neuromusculaire* (Coll. avec B. JASMIN, Ottawa, Canada, J. CARTAUD, Institut Jacques Monod, Paris)

Quatre anticorps dirigés contre des protéines spécifiques du Corps de Golgi (210 KD, 160 KD, rab 6 et TGN 38) ont été utilisés pour suivre par immunofluorescence la localisation du Corps de Golgi au cours de la différenciation du muscle et de la formation de la plaque motrice. Dans les myoblastes mononucléés, les quatre anticorps marquent un Corps de Golgi unique et polarisé étroitement associé au noyau. Dans les myotubes en culture, les mêmes anticorps décorent un Corps de Golgi ponctiforme distribué autour de chaque noyau sarcoplasmique. Dans la fibre musculaire adulte, en accord avec nos observations initiales (Jasmin *et al.*, 1990), le Corps de Golgi se trouve confiné au domaine sous-synaptique ; de plus l'absence de réactivité à son niveau pour l'anticorps TGN 38 révèle une différenciation biochimique, jusque là inconnue, du Corps de Golgi au cours du développement. Enfin, la dénervation du muscle adulte entraîne une réapparition de l'immunoréactivité pour les quatre anticorps et, en particulier, TGN 38. La présence d'un Corps de Golgi différencié au niveau de la plaque motrice ainsi que l'existence d'un faisceau polarisé de microtubules dans le domaine postsynaptique est en accord avec l'hypothèse d'une « voie sécrétrive intracellulaire » spécialisée dans le transport et le ciblage de la protéine réceptrice dans la membrane sous-synaptique (Cartaud et Changeux, 1993).

III. RÉGULATION D'EXPRESSION DES GÈNES DU RÉCEPTEUR NICOTINIQUE CENTRAL

1. *Modulations nicotiques et muscariniques de la transmission synaptique excitatrice dans le cortex préfrontal in vitro* (VIDAL et CHANGEUX, 1993)

Les effets pharmacologiques de la nicotine et l'importance de l'innervation cholinergique du néocortex sur les fonctions cognitives sont bien connus. Dans

le but de distinguer les effets qui relèvent des récepteurs nicotiniques de ceux qui engagent des récepteurs muscariniques, des enregistrements intracellulaires de potentiels synaptiques ont été réalisés sur des cellules pyramidales des couches II et III à partir de tranches de cortex préfrontal de rat (Vidal et Changeux, 1993). L'application ionophorétique d'agonistes nicotiniques *augmente* l'amplitude des potentiels postsynaptiques d'excitation associés aux récepteurs de glutamate (non NMDA) ; l'effet est bloqué par la bungarotoxine neuronale et par la dihydro β -erythroïdine et n'entraîne de modification ni du potentiel, ni de la conductance de la membrane du neurone enregistré. Les agonistes muscariniques, au contraire, *diminuent* l'amplitude de la réponse postsynaptique mais avec des caractéristiques semblables à celle des agonistes nicotiniques. Les agonistes nicotiniques facilitent donc les transmissions synaptiques excitatrices glutamatergiques au niveau du cortex préfrontal et les agonistes muscariniques ont l'effet opposé.

2. *Expression différentielle des ARN messagers codant pour les sous-unités α_3 , α_4 , β_2 , β_4 au cours du développement du système nerveux central et périphérique du rat (ZOLI et coll., 1994)*

La distribution des ARN messagers codant pour les sous-unités α_3 , α_4 , β_2 et β_4 suit trois types d'évolutions distinctes au cours du développement prénatal et périnatal. *Type A*, le plus fréquent, les ARN sont présents initialement, évoluent en parallèle puis atteignent un maximum à partir duquel le niveau de l'un ou l'autre (ou de plusieurs) de ces ARN diminue tandis que celui des autres se maintient ; *Type B*, présent dans le cortex, AE₁₂-AE₁₃ les RNA messagers pour les sous-unités α_3 et β_2 sont exprimés. Ensuite, α_3 disparaît (E₁₅) et α_4 commence alors à être exprimé (E₁₇-E₁₉). L'ARN messenger de β_2 reste toujours exprimé ; *Type C*, observé dans la rétine et dans les ganglions sympathiques, les niveaux des ARN messagers des sous-unités exprimés s'accroissent et restent stables au cours du développement. L'expression différentielle et variable suivant les régions du système nerveux central et périphérique des ARN messagers codant pour les diverses sous-unités du récepteur nicotinique au cours du développement rend plausible une « pharmacologie ciblée » sur une combinaison définie de sous-unités engagées dans un comportement particulier s'exprimant à un stade donné du développement.

3. *Éléments régulateurs négatifs situés en amont d'un nouvel exon de la sous-unité α_2 du récepteur nicotinique neuronal (BESSIS et coll., 1993)*

La sous-unité α_2 s'exprime d'une manière très restreinte au niveau des neurones du noyau spiriforme latéral dans le diencéphale du poulet. Dans le but d'identifier les éléments régulateurs qui contrôlent cette expression, les séquences 5' situées en amont du gène de structure ont été séquencées et leur fonction étudiée dans des lignées de fibroblasts (3T3) et de neurones (PC12)

en culture (Bessis et coll., 1993). Un nouvel exon non codant a été découvert à 3 kb en amont du premier exon codant et plusieurs sites de démarrage de la transcription cartographiés. La région proximale de 1 kb contient au moins en partie la région promotrice et un domaine inhibiteur (« silencer ») situé entre les bases - 44 et + 76 et composé de 6 motifs de type Oct (CCCCATG-CAAT) répétés en tandem. Toutefois quand 2, 4 ou 5 de ces motifs sont éliminés l'activité inhibitrice se transforme, de manière inattendues, en activité activatrice.

4. *Evolution de la densité de synapses dans le cortex visuel primaire du macaque du stade fœtal à l'adulte* (BOURGEOIS et RAKIC, 1993)

La cinétique de la synaptogénèse dans le cortex visuel primaire du macaque a été suivie par microscopie électronique de E₅₀ à 20 ans sur 33 singes (Bourgeois et Rakic, 1993). Elle comprend 6 phases principales : 1) une phase initiale embryonnaire de E₅₀ à E₁₀₀ où les synapses apparaissent principalement au-dessus et en-dessous de la plaque corticale, 2) une phase précoce de synaptogénèse de E₁₀₀ à E₁₅₀, de l'intérieur vers l'extérieur (à partir de la future couche VI) au sein de la plaque corticale, 3) une phase exponentielle de synaptogénèse dans toutes les couches du cortex qui atteint la densité maximum (90-100 μm^3) au 3^e mois après la naissance et se poursuit 4) pendant l'adolescence pour 5) diminuer rapidement au moment de la puberté (2.7 à 5 ans) et 6) atteindre la valeur de l'adulte (50-100 μm^3) qui se perpétue jusqu'à 20 ans.

V. *MODÈLES FORMELS*

Un modèle de morphogénèse de la plaque motrice faisant intervenir morphogène diffusible, signalisation transmembranaire et compartimentation d'expression génique (KERSZBERG et CHANGEUX, 1993)

Un modèle mathématique est proposé (Kerszberg et Changeux, 1993) pour expliquer le développement d'une transcription compartimentée de gènes du récepteur au niveau de noyaux sous-synaptiques à partir d'une transcription homogène au niveau de tous les noyaux de la fibre musculaire. Les postulats du modèle incluent un morphogène diffusible (par exemple, un facteur myogénique) présent en quantité limitée et intervenant dans un commutateur génétique intranucléaire où il règle positivement sa propre transcription et celle des gènes du récepteur nicotinique. L'efficacité de la boucle d'autorégulation positive est réprimée par l'activité électrique (par exemple, à la suite d'une phosphorylation) mais stimulée par un facteur neural antérograde (du type CGRP). Le modèle inclut deux composantes majeures du modèle de Turing : autocatalyse et activation locale (par le morphogène) et inhibition à distance (par l'activité électrique). Il rend compte des principales étapes du développement de l'innervation motrice et des effets de la dénervation.

VI. DÉVELOPPEMENTS BIOTECHNOLOGIQUES. BREVETS

Ancrage spécifique et détection individuelle de molécules (A. BENSIMON et Coll. avec l'Ecole Normale Supérieure) (BENSIMON et coll., 1994)

Un ensemble de techniques qui conduisent à de nouvelles possibilités d'analyse et de détection à l'échelle d'une seule molécule ont été développées avec des applications biologiques importantes, en particulier en immunologie et en génétique. Ces techniques font intervenir un ancrage spécifique de la molécule d'arrêt sur un solide, suivi d'une méthode originale de détection. L'ensemble du processus (Bensimon et coll., 1994) repose sur : 1) un traitement de surface conduisant à une très grande spécificité d'attachement de molécules biologiques avec un très faible taux de bruit de fond ; 2) un procédé original d'alignement des molécules permettant une identification aisée individuelle et conduisant aussi à une possibilité de localisation spatiale d'un motif donné le long de la molécule ; 3) une méthode individuelle de détection soit par fluorescence soit par marqueur (microbilles). Deux brevets sur ces thèmes ont été soumis à l'Institut Pasteur en collaboration avec le CNRS.

PUBLICATIONS

1993 (fin)

Articles :

— Mutations at two distinct sites within the channel domain M2 alter calcium permeability of neuronal $\alpha 7$ nicotinic receptor. D. BERTRAND, J.L. GALZI, A. DEVILLERS-THIÉRY, S. BERTRAND et J.-P. CHANGEUX. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 90, 6971-6975.

— Chimaeric nicotinic-serotonergic receptor combines distinct ligand binding and channel specificities (1993a). J.L. EISELÉ, S. BERTRAND, J.L. GALZI, A. DEVILLERS-THIÉRY, J.P. CHANGEUX et D. BERTRAND. Nature, 366, 479-483.

— Voltage-dependencies of the effects of chlorpromazine on the nicotinic receptor channel from mouse cell line So 18. P. BENOIT et J.P. CHANGEUX. Neurosci. Lett., 160, 81-84.

— A Raman spectroscopic study of acetylcholine receptor-rich membranes from *T. Marmorata*. Interactions of the receptor with carbamylcholine and d-tubocurarine. D. ASLANIAN, P. GROF, J.L. GALZI et J.P. CHANGEUX. Biochem. Biophys. Acta, 1148 (2), 291-302.

— Nicotinic and muscarinic modulations of excitatory synaptic transmission in the rat prefrontal cortex *in vitro*. C. VIDAL et J.P. CHANGEUX. *Neuroscience*, 56, 23-32.

— Negative regulatory elements upstream of a novel exon of the neuronal nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 2$ subunit gene. A. BESSIS, N. SAVATIER, A. DEVILLERS-THIÉRY, S. BENJAMIN et J.P. CHANGEUX. *Nuclei Acid Res.*, 21, 2185-2192.

— Changes of synaptic density in the primary visual cortex of the macaque monkey from fetal to adult stage. J.P. BOURGEOIS et P. RAKIC. *J. Neurosci.*, 13, 2801-2820.

— A model for motor endplate morphogenesis : diffusible morphogens, transmembrane signalling and compartmentalized gene expression. M. KERSBERG et J.P. CHANGEUX. *Neural Computation*, 5, 341-358.

— Development of elementary numerical abilities : a neuronal model. S. DEHAENE et J.P. CHANGEUX. *J. Cogni. Neurosci.*, 5, 390-407.

— Preparation of protein crystallization buffers with a computer-controlled motorized pipette Pipex. J.L. EISELÉ. *J. Appl. Crist.*, 26, 92-96.

— Crystallization and preliminary crystallographic analysis of a tetrameric isolectin from *Vicia villosa*, specific for the Tn antigen (1993b). J.L. EISELÉ, D. TELLO, E. OSINAJA, A. ROSETO et P.M. ALZARI. *J. Mol. Biol.*, 230, 670-672.

Revues :

— Stratification of the channel domain in neurotransmitter receptors. D. BERTRAND, J.L. GALZI, A. DEVILLERS-THIÉRY, S. BERTRAND et J.P. CHANGEUX. *Current Opinion in Cell Biology*, 5, 688-693.

— Functional architecture of the nicotinic acetylcholine receptor : a prototype of ligand-gated ion channels. A. DEVILLERS-THIÉRY, J.L. GALZI, J.L. EISELÉ, S. BERTRAND, D. BERTRAND et J.P. CHANGEUX. *J. Membrane Biol.*, 136, 97-112.

— Posttranscriptional compartmentalization of acetylcholine receptor biosynthesis in the subneural domain of muscle and electrocyte junctions. J. CARTAUD et J.P. CHANGEUX. *Eur. J. Neurosci.*, 5, 191-202.

1994

Articles :

— *In vivo* and *in vitro* analysis of electrical activity-dependent expression of muscle acetylcholine receptor genes using adenovirus. J.L. BESSEREAU, L. STRARFORD-PERRICAUDET, L. PIETTE, C. LE POUAPON et J.P. CHANGEUX. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91, 1304-1308.

— Phosphorylation of myogenin in chick myotubes : regulation by electrical activity and by protein kinase C. Implications for acetylcholine receptor gene expression. D. MENDELZON, J.P. CHANGEUX et H.O. NGHIÊM. *Biochemistry*, *33*, 2568-2575.

— Plasticity of the Golgi apparatus in skeletal muscle fibers : specialization within the subneural sarcoplasm. B.J. JASMIN, C. ANTONY, J.P. CHANGEUX et J. CARTAUD (soumis).

— Developmental regulation of nicotinic receptor subunit mRNAs in the rat central and peripheral nervous system. M. ZOLI, N. LE NOVÈRE, J. HILL et J.P. CHANGEUX. *J. Neurosci.* (sous presse).

— Working memory, response selection and effortful processing in rats with medial, prefrontal lesions. S. GRANON, C. VIDAL, C. THINUS-BLANC, J.P. CHANGEUX et B. POU CET. *Behav. Neurosci.*, *108*, 1-9.

— Synaptogenesis in the prefrontal cortex of rhesus monkeys. J.P. BOURGEOIS, P.S. GOLDMAN-RAKIC et P. RAKIC. *Cerebral Cortex*, *4*, 78-96.

— A model for reading morphogenetic gradients : autocatalysis and competition at the gene level. M. KERSZBERG et J.P. CHANGEUX. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *91*, 5823.

— Alignment and sensitive detection of DNA by a moving interface. A. BENSIMON, A. SIMON, A. CHIFFAUDEL, V. CROQUETTE, F. HESLOT et D. BENSIMON. *Science*, *265*, 2096-2098.

Reviews :

— On allosteric mechanisms and acetylcholine receptor. J.P. CHANGEUX et S. EDELSTEIN. *Trends Biochem. Sci.*, *19*, 399-400.

— Neurotransmitter-gated ion channels as unconventional allosteric proteins. J.L. GALZI et J.P. CHANGEUX. *Cur. Op. Struct. Biol.* *4/4*, 554-565.

— Neurotransmitter receptors in the changing brain : signal transduction, gene expression and pathology at the molecular level. J.P. CHANGEUX. *In* : « Individual Development over the Lifespan : Biological and Psychosocial Perspectives ». Nobel Symposium 1994. The Cambridge University Press (sous presse).

— Compartmentalized transcription of acetylcholine receptor genes during development of the neuromuscular junction. J.L. BESSEREAU et J.P. CHANGEUX. *In* : « Molecular Neurobiology : Proceedings of the second NIMH Conference », Keystone, Colorado, September 20-24, 1992, pp. 184-202. Editors : Steven Zalcman, Richard Scheller and Richard Tsien.

— Nicotinic potentiation of glutamatergic synapses in the prefrontal cortex : new insight into the analysis of the role of nicotinic receptors in cognitive functions. C. VIDAL. *Drug Dev. Res.*, *31*, 120-126.

— Pensée logico-mathématiques et modèles neuronaux des fonctions cognitives. S. DEHAENE et J.P. CHANGEUX. *In* : « Pensée logico-mathématique — Nouveaux objets interdisciplinaires ». Olivier Houdé and Denis Miéville eds., Puf Publisher, pp. 123-146.

— Coherent evolution of genome structure and DNA repair mechanisms : the control of mutation. M. KERSZBERG. *Proc. Royal Soc. Biol. Sci.* (sous presse).

SÉMINAIRES

PARIS : BASES NEURALES DES REPRÉSENTATIONS MENTALES

— 14 mars, D. SPERBER : Les représentations mentales : leurs causes et leurs effets.

— 21 mars, J.R. DUHAMEL : Les bases neuronales de la représentation dans l'espace.

— 28 mars, D. PERRETT : Mental representation of the facial attributes : single cell and computer graphic studies.

— 25 avril, S. DEHAENE : La représentation des objets mathématiques.

— 2 mai, J. MEHLER : Les représentations mentales du nouveau-né.

LISBONNE : LES RÉCEPTEURS DE NEUROMÉDIATEURS
DANS LE SYSTÈME NERVEUX

● 6 juin, S. TONEGAWA :

— Learning and memory

— Early developmental defect in somatosensory systems.

● 9 juin, D. STROSBERG :

— Structure et fonction des récepteurs couplés aux protéines G

— Expression des récepteurs couplés aux protéines G dans les micro-organismes.

CONFÉRENCES DONNÉES SUR INVITATION À DES CONGRÈS,
COLLOQUES ET SYMPOSIA INTERNATIONAUX

Jean-Pierre CHANGEUX :

— Colloque Pasteur-Weizmann, Bordeaux, 6 juillet 1993.

- 22nd FEBS Meeting, Stockholm, Suède, 8-9 juillet 1993 (conférencier et président de symposium).
- 11th International Biophysics Congress, Budapest, Hongrie, 28-30 juillet 1993.
- 14th International Society for Neurochemistry Biennial Meeting, Montpellier, 25 août 1993.
- X^e Journée de Génétique et de Pathologie Moléculaires, Institut Cochin Paris, 17 septembre 1993.
- 2nd IUBMB Conference on « Biochemistry of Cell Membranes », Bari, Italie, 30 septembre 1993.
- 1993 World Congress on Psychiatric Genetics (Conférence plénière), La Nouvelle Orléans, USA, 3 octobre 1993 ;
- Séminaire à l'Institut de Biologie, Jülich, Allemagne, 22 octobre 1993.
- Workshop on basic Mechanisms of the Epilepsies, Yosemite, Californie, USA, 25-26 octobre 1993.
- Conférence, Fondation Erasme, Bruxelles, 5 novembre 1993.
- Conférence, Institut Culturel Italien, Paris, 9 novembre 1993.
- Workshop « Membrane Receptors, Biomimetic Molecules, Biosensors », ENS Cachan, 18 novembre 1993.
- Conférences Giuseppe Moruzzi organisée par l'Accademia Nazionale dei Lincei, Ecole Normale Supérieure de Pise, Italie, 29-30 novembre 1993.
- Thudichum Lecture, British Biochemical Society, Imperial College, London, 21 décembre 1993.
- EMBO Symposium en l'honneur du Dr. John Tooze, Heidelberg, Allemagne, 28 janvier 1994.
- Collegium Internationale Neuro-Psychopharmacologicum Workshop, Palais du Luxembourg, Paris, 10 mars 1994.
- Human Frontier Science Program Meeting, Tokyo, Japon, 5 avril 1994.
- Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology, Snowbird, Utah, USA, 13 avril 1994 (conférencier et président de séance).
- Euromyasthenia IV, Palais des Congrès, Versailles, 29 avril 1994.
- 2^{es} Rencontres Institut de Recherches Cliniques de Montréal/Institut Pasteur, Château de Combray, Norolles, 23 mai 1994.
- « Challenges and Perspectives in Neurosciences », Wenner-Gren Center Foundation, Stockholm, Suède, 2 juin 1994.
- Camillo Golgi Lecture « Neural Bases on Cognition », Accademia dei Lincei, Rome, Italie, 15 juin 1994.

— Nobel Symposium « The life-span development of individuals : A synthesis of biological and psychological perspectives », Södergarn, Stockholm, Suède, 20 juin 1994.

— Sir Hans Krebs Lecture, FEBS meeting (conférence plénière d'ouverture), Helsinki, 27 juin 1994.

— XIXth Collegium Internationale Neuro-Psychopharmacologicum Congress, Washington DC, USA, 29 juin-1^{er} juillet 1994 (conférence plénière et symposium).

Anne DEVILLERS-THIÉRY :

— Congrès de Neurobiologie, Marseille, mai 1994.

Aymeric DUCLERT :

— 11th National Meeting, The Brain Research Association, Southampton, U.K., avril 1993.

Jean-Luc EISELE :

— Conférence à San Diego, Californie, USA, août 1993.

— Congrès de Cristallographie, Grenoble, octobre 1993.

Jean-Luc GALZI :

— XXXIInd International Congress of Physiological Sciences, Glasgow, U.K., août 1993.

— USGEB Symposium on « Ion Channels », Berne, Suisse, mars 1994.

Michel KERSZBERG :

— Second Annual Computation and Neural Systems Meeting, Washington DC, USA, juillet-août 1993.

— Symposium on Immunology as a Cognitive Science, Institut Weizmann, Rehovot, Israël, avril 1994.

Hoàng Oanh NGHIEM :

— Conférence Jacques Monod, Aussois, septembre-octobre 1993.

Catherine VIDAL :

— 16th Annual Meeting of the European Neuroscience Association, Madrid, septembre 1993.

DISTINCTIONS

Jean-Pierre CHANGEUX :

- Commandeur dans l'Ordre des Arts et des Lettres, janvier 1994.
- Goodman and Gilman Award, American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics, Anaheim, Californie, USA, avril 1994.
- Camillo Golgi Medal, Accademia dei Lincei, Rome, juin 1994.
- Sir Hans Krebs Medal, FEBS, Helsinki, Finlande, juin 1994.
- Doctor *Honoris Causa*, Université de Genève, juin 1994.
- Foreign Honorary Member of the American Academy of Arts and Sciences, Boston, USA, 1994.
- Thudichum Medal, Biochemical Society, Londres, décembre 1993.