

## HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES

Date de la soutenance : **12 décembre 2025**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Monsieur PELLARIN Riccardo**

Titre des travaux : *Composants de la cellule : simulation, modélisation et conception*



### Résumé

Mes recherches portent sur la biologie structurale intégrative et la biophysique computationnelle, visant à élucider la structure et la dynamique de systèmes macromoléculaires complexes, à étudier l'agrégation et le repliement des protéines, ainsi qu'à concevoir des peptides et des composants moléculaires capables d'interférer avec et de surveiller les fonctions biologiques.

Au début de ma carrière, je me suis concentré sur l'agrégation des protéines et sur la conception d'inhibiteurs de l'agrégation amyloïde. J'ai notamment étudié les mécanismes de formation des fibrilles amyloïdes, en identifiant les propriétés physicochimiques (par ex. aromaticité, propension  $\beta$ , charge) et les segments à forte propension à l'agrégation qui sont essentiels à ce processus. Ces travaux ont exploré le polymorphisme des fibrilles amyloïdes ainsi que l'ingénierie de leurs surfaces. J'ai contribué à la conception d'inhibiteurs de l'agrégation, incluant des analyses *in silico* et *in vitro* de petites molécules inhibitrices de l'agrégation amyloïde A $\beta$ , ainsi que le photocontrôle de la formation amyloïde réversible au moyen de peptides minimalistes. Au cours de cette première période, j'ai co-encadré quatre doctorants et deux chercheurs postdoctoraux.

Plus récemment, mes principales contributions portent sur le développement et l'application d'approches de modélisation intégrative pour établir des modèles structuraux de complexes macromoléculaires. Ces méthodes s'appuient sur la plateforme open source **Integrative Modeling Platform (IMP)** et son interface de modélisation en Python (PMI). J'ai utilisé des représentations multi-échelles, combinant des corps rigides issus de structures atomiques connues avec des chaînes flexibles de perles en représentation grossière, afin de modéliser efficacement des protéines et des complexes à différentes résolutions. Durant cette seconde période, j'ai co-encadré cinq doctorants, deux étudiants de Master et trois postdoctoraux. La modélisation intégrative combine diverses données expérimentales pour la détermination structurale, notamment : la spectrométrie de masse par réticulation (CX-MS/XL-MS) pour définir des proximités spatiales et des conformations protéiques ; les cartes de densité en cryo-microscopie électronique (cryo-EM) et la cryotomographie électronique (cryo-ET) pour la forme globale des complexes et certaines caractéristiques locales ; la spectrométrie de masse quantitative pour déterminer la stoechiométrie des protéines ; la cristallographie aux rayons X et la diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS) pour des détails structuraux atomiques et basse résolution ; le transfert d'énergie par résonance de Förster (FRET) et la spectrométrie de masse par échange hydrogène–deutérium (HDX-MS) pour des informations sur la dynamique et les interactions ; ainsi que les informations de co-évolution et les modèles AlphaFold2 pour guider la construction des modèles, l'assignation des séquences et la validation. J'ai développé des approches bayésiennes pour une

interprétation robuste des données expérimentales, prenant explicitement en compte le bruit et l'incertitude. Ces approches impliquent un échantillonnage configurationnel exhaustif, suivi de l'analyse d'ensembles de modèles à l'aide de cartes de densité de localisation et de calculs de précision.

J'ai appliqué ces méthodes intégratives pour élucider l'architecture de nombreux assemblages macromoléculaires essentiels, tels que le complexe du pore nucléaire (NPC), des composants de la machinerie transcriptionnelle (par ex. TFIIH de levure et humain, l'ARN polymérase II et le complexe Médiateur), le système de sécrétion de type VI (T6SS) et ses composants membranaires/plaque basale, ainsi que le complexe exosome de levure. J'ai également caractérisé avec succès d'autres complexes protéiques, notamment la protéine du complément C3(H2O), le récepteur STRA6, les histones H3/H4, et les interactions protéiques à l'échelle du protéome dans des cellules bactériennes, y compris les ribosomes.

En matière de développement logiciel, je suis co-développeur d'IMP et de PMI, comme mentionné ci-dessus. Plus récemment, j'ai travaillé sur **AlignScape**, une bibliothèque Python destinée à visualiser les similarités de séquences et à calculer des motifs de co-évolution. J'ai également contribué à l'analyse de données de spectrométrie de masse par réticulation au moyen du script *mi-filter*, ainsi qu'à des simulations cinétiques de formation de réticulations. Enfin, j'ai participé au développement et à la mise en oeuvre d'outils au sein du cadre IMP pour diverses applications en biologie structurale. Dans leur ensemble, ces travaux font progresser de manière significative la compréhension de la structure, de la fonction et de la dynamique des macromolécules grâce à des approches intégratives de pointe, combinant expériences et calculs.