médecine/sciences 1998 ; 14 : 1083-8

Étude par spectroscopie RMN in vivo du transport du glucose dans le muscle humain

Alors que sa fonction première apparaît plus mécanique que métabolique, le muscle squelettique joue un rôle capital, de même que le foie et le pancréas, dans l'homéostasie du glucose. En particulier, après un repas riche en hydrates de carbone, l'insuline produite par le pancréas permet une entrée massive du glucose depuis le secteur plasmatique, puis interstitiel, vers les cellules musculaires *(figure 1)*. La première étape de ce captage est assurée par un système de diffusion membranaire facilitée : deux types de protéines, appelées GLUT-1 et GLUT-4, sont en charge de ce transport. Cependant, seul le second type est réglé par l'insuline. Lors d'une stimulation par l'insuline, le nombre de transporteurs GLUT-4 augmente dans la membrane plasmique des myocytes, par un mécanisme de translocation à partir d'un compartiment endosomique, pour permettre au muscle squelettique de devenir le principal site de consommation du glucose dans l'organisme. Le métabolisme intracellulaire du glucose, après phosphorylation par l'hexokinase, est divisé en deux voies *(figure 1)*. La voie glycolytique puis oxydative sert à la production d'ATP, principale source d'énergie biochimique. La seconde voie, prédominante lors d'une stimulation par l'insuline, aboutit à la synthèse de glycogène. Ce polymère de glucose est une forme de stockage intracellulaire rapidement mobilisable. De nombreuses enzymes intervenant dans ce métabolisme intracellulaire (hexokinase, pyruvate déshydrogénase, glycogène synthase) sont susceptibles d'être impliquées dans le contrôle du flux métabolique du glucose.

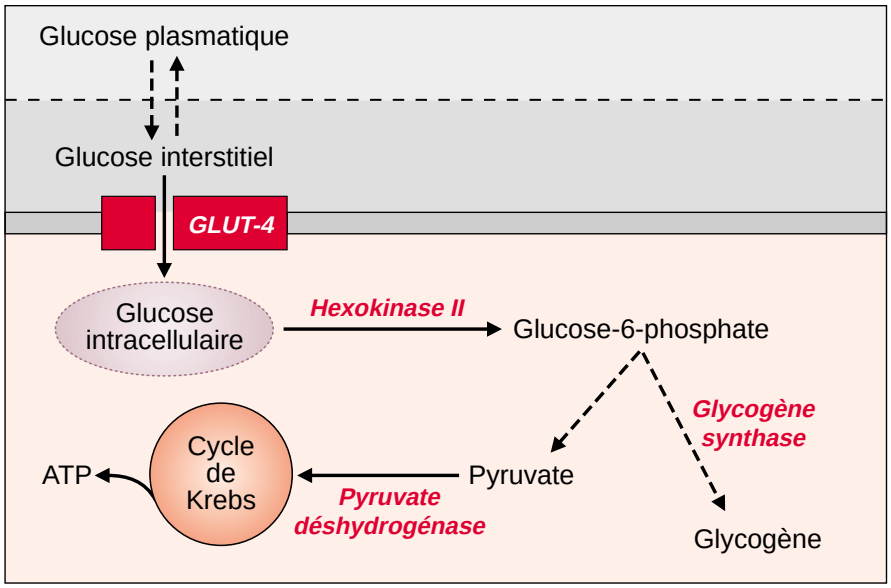

Figure 1. ***Représentation schématique du métabolisme musculaire du glucose en hyperinsulinémie.*** *Le métabolisme intracellulaire du glucose, après phosphorylation par l'hexokinase, est divisé en deux voies : la voie glycolytique puis oxydative sert à la production d'ATP, principale source d'énergie biochimique. La seconde voie, prédominante lors d'une stimulation par l'insuline, aboutit à la synthèse de glycogène. Les principales étapes enzymatiques potentiellement impliquées dans le contrôle métabolique du flux de glucose apparaissent en italiques.*

Le muscle : un organe-clé dans la régulation de la glycémie

Le rôle-clé du muscle dans la régulation de la glycémie est évident dans les diabètes non insulinodépendants (DNID). Cette famille de diabètes se caractérise par un syndrome hyperglycémique lié à une diminution de l'efficacité de l'action de l'insuline (état appelé insulinorésistance), à la fois aux niveaux hépatique et musculaire. Ainsi, alors qu'il subsiste une production normale, voire augmentée d'insuline, le foie et le muscle sont incapables d'assimiler efficacement la charge de glucose consécutive à un repas. Cette insulinorésistance centrale et périphérique explique en grande partie les glycémies postprandiales très élevées observées dans ces maladies.

La caractérisation détaillée des mécanismes cellulaires responsables de l'insulinorésistance musculaire dans les DNID, ou dans d'autres affections (obésité, infections, cirrhose hépatique), est encore incomplète à ce jour et nécessite d'abord une meilleure connaissance de la régulation normale de l'utilisation du glucose par le muscle. En effet, bien

qu'il existe un consensus général pour attribuer à l'étape de transport membranaire l'exclusivité du contrôle du flux métabolique du glucose dans des conditions basales (celles du sujet à jeun, c'est-à-dire en euglycémie et avec une insulinémie faible), le contrôle de ce flux reste très discuté en hyperglycémie-hyperinsulinémie, situation survenant physiologiquement après un repas.

La théorie du contrôle du flux : un cadre d'analyse rigoureux

La définition de l'importance relative des étapes enzymatiques successives d'une voie métabolique dans le contrôle du flux a longtemps souffert d'un flou conceptuel. Dans les livres de cours et les articles scientifiques actuels figurent encore des expressions telles que « étape limitante de la voie de synthèse du glycogène », dont la signification exacte est le plus souvent difficile à cerner. Or, dès 1973, Kacser et Burns en Grande-Bretagne ont jeté les fondements de la théorie du contrôle du flux [1]. Ce cadre conceptuel rigoureux permet d'exprimer quantitativement les contributions relatives des différentes étapes enzymatiques au contrôle du flux d'une voie métabolique. Ainsi, chaque enzyme Ei se voit attribuer un coefficient de contrôle C^{Ei} défini comme la variation relative du flux F pour une variation relative isolée de la quantité d'enzyme :

$$C^{Ei} = (\partial F/F)/(\partial Ei/Ei) \qquad (1)$$

Par construction, la somme des coefficients de contrôle pour toutes les étapes d'une voie métabolique est égale à 1. L'importance relative des différentes étapes est ainsi quantifiable. Le contrôle du flux peut être distribué sur plusieurs étapes (par exemple cinq étapes successives avec des coefficients de contrôle de 0,2), ou au contraire une seule étape peut avoir un coefficient de contrôle très proche de 1, les autres ayant des coefficients proches de 0. C'est dans cette situation extrême, qui n'est pas la règle générale, que l'on rejoint la notion d'étape limitante. Sur le plan de la physiopathologie, il est important de souligner qu'une étape à fort coefficient de contrôle pourra, si elle est altérée, avoir d'importantes répercussions pathologiques. A l'inverse, l'altération d'une étape à faible coefficient de contrôle n'aura que peu de répercussions sur le flux. Ce mécanisme pourrait expliquer en partie que certaines altérations génétiques d'une protéine aient des conséquences phénotypiques plus ou moins redoutables selon la force du contrôle qu'elle exerce dans une voie métabolique.

En pratique, il est quasiment impossible de réaliser une expérience mesurant directement C^{Ei} dans des organismes complexes, car il est difficile de manipuler isolément la quantité d'une enzyme. Le formalisme rigoureux de la théorie du contrôle du flux peut cependant être utilisé, même chez l'homme, à condition de concevoir plusieurs expériences complémentaires pertinentes permettant un calcul indirect de C^{Ei}. Cette approche a été appliquée en particulier au métabolisme musculaire du glucose, d'abord par le groupe de R.G. Shulman à Université de Yale (CT, USA) [2], puis par le groupe du SHFJ à Orsay [3]. Ces études, qui reposent sur des mesures tissulaires effectuées par spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (SRMN), ont cherché à déterminer si, dans les conditions de captage rapide de glucose par le muscle (hyperglycémie-hyperinsulinémie), une étape particulière du métabolisme du glucose assure une part prépondérante du contrôle du flux, comme c'est le cas pour le transport transmembranaire en conditions basales.

La SRMN *in vivo* : une technique de dosage *in situ* non invasive

La SRMN permet de mesurer par détection externe la concentration de certaines molécules dans les tissus d'un organisme vivant [4]. Cette technique d'analyse biochimique *in situ* partage les mêmes bases théoriques et instrumentales que l'imagerie par résonance magnétique (IRM). Le signal détecté provient de certains noyaux atomiques possédant une aimantation intrinsèque : le proton, utilisé pour l'IRM conventionnelle, mais aussi le phosphore 31 (^{31}P) et le carbone 13 (^{13}C). Ce signal

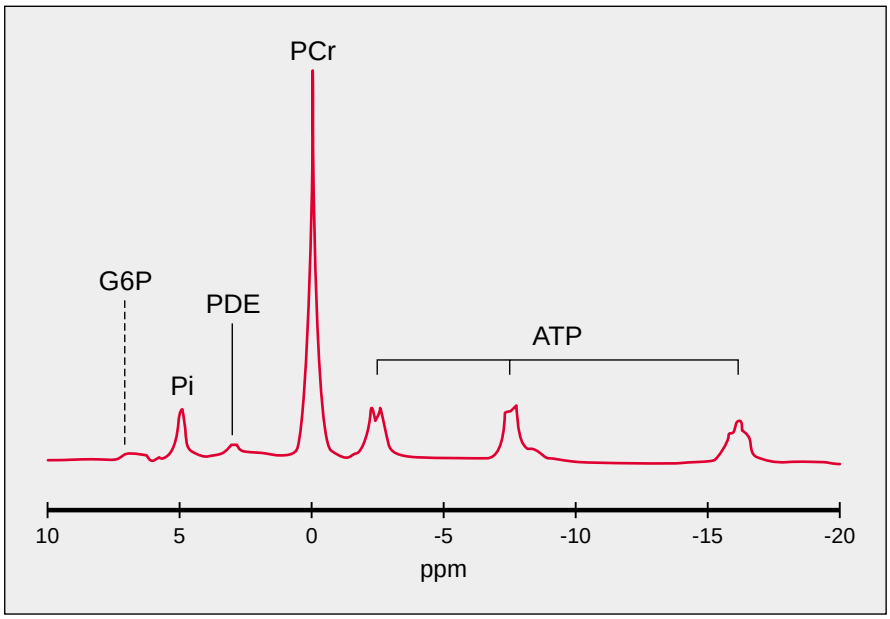

Figure 2. ***Spectre RMN du ^{31}P obtenu sur la jambe d'un volontaire sain au cours d'un clamp hyperinsulinémique dans un aimant à 3 Tesla.*** *Les métabolites phosphorés les plus abondants sont la phosphocréatine (PCr), l'ATP (comprenant trois résonances), le phosphate inorganique (Pi) et les phosphodiesters (PDE). En outre, dans la région des phospho-monoesters (PME), la résonance peu intense du glucose-6-phosphate (G6P) est détectée à 7,1 ppm (partie par million, échelle conventionnelle de fréquence en RMN).*

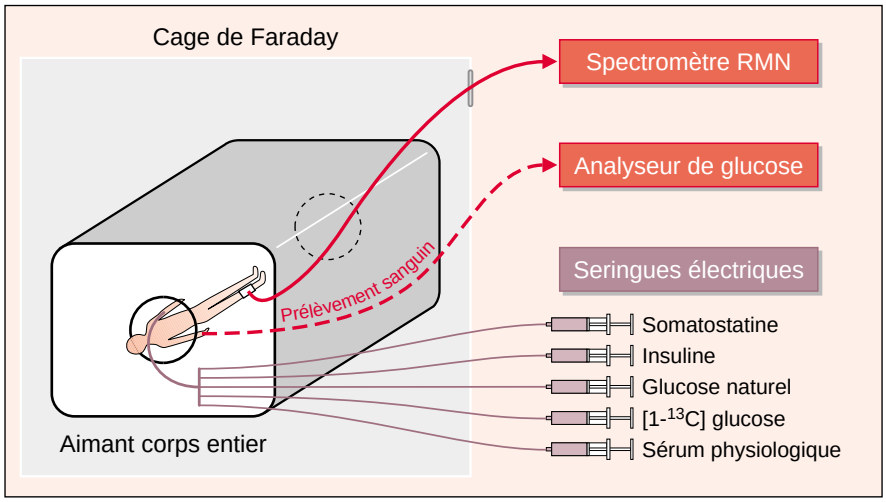

Figure 3. ***Schéma du dispositif expérimental utilisé pour réaliser une étude de spectroscopie RMN* in vivo *chez l'homme combinée à un clamp glycémique-insulinémique.*** *L'insulinémie est imposée par une perfusion d'insuline exogène (la production endogène étant inhibée par la perfusion de somatostatine) et la glycémie est maintenue à un niveau choisi à l'aide d'une perfusion variable de glucose. En perfusant au sujet du glucose marqué au ^{13}C en position 1 ([1-^{13}C]glucose), il est, en outre, possible de suivre la synthèse de glycogène. La mesure par SRMN du glycogène musculaire se révèle plus précise que la technique biopsique combinée à l'analyse biochimique classique.*

n'est observé que si le volume d'intérêt est placé dans un fort champ magnétique statique pour polariser l'aimantation nucléaire. Plus ce champ magnétique est élevé (au moins 30 000 fois le champ terrestre pour la SRMN chez l'homme) plus le signal détecté est intense. La SRMN observe une espèce nucléaire à la fois. L'information est obtenue sous forme d'un spectre dont chaque raie correspond à un environnement moléculaire particulier *(figure 2)*. L'intensité de chaque raie permet de déterminer la concentration des molécules qui lui correspondent.

La SRMN *in vivo* a été appliquée à l'exploration du métabolisme musculaire du glucose chez l'homme tout d'abord pour mesurer la concentration et la vitesse de synthèse du glycogène, en observant le ^{13}C. Cet isotope stable ne représente que 1,1 % des atomes de carbone en abondance naturelle. Malgré cela, la mesure par SRMN du glycogène musculaire se révèle plus précise que la technique biopsique combinée à l'analyse biochimique classique [5]. En perfusant au sujet du glucose marqué au ^{13}C en position 1 ([1-^{13}C]glucose), il est, en outre, possible de suivre la synthèse de glycogène au cours d'une épreuve de clamp glycémique-insulinémique *(figure 3)*. La technique du clamp glycémique-insulinémique est couramment utilisée, en particulier en diabétologie, pour évaluer la sensibilité à l'insuline d'un sujet : l'insulinémie est imposée par une perfusion d'insuline exogène (la production endogène étant inhibée par la perfusion de somatostatine) et la glycémie est maintenue à un niveau choisi à l'aide d'une perfusion variable de glucose.

Cette approche expérimentale a permis de démontrer qu'en hyperglycémie (≈ 10 mM) – hyperinsulinémie (≈ 400 pM), près de 90 % du glucose capté par le muscle est utilisé pour la synthèse de glycogène [6]. Dans ces conditions, la question du contrôle du flux du glucose dans le muscle peut donc se ramener à celle du contrôle de la synthèse de glycogène. En raison de sa position centrale dans la voie métabolique de l'utilisation du glucose *(figure 1)*, le glucose-6-phosphate (G6P) peut également fournir de précieux renseignements. Or, ce métabolite phosphoré peut également être observé par SRMN du ^{31}P [7, 8]. Les variations de vitesse de synthèse du glycogène et de concentration du G6P en fonction de la glycémie ont ainsi permis d'affirmer qu'en hyperglycémie-hyperinsulinémie modérée, le contrôle du flux du glucose dans le muscle est assuré principalement au niveau de l'étape de transport transmembranaire ou de l'étape de phosphorylation du glucose intracellulaire par l'hexokinase [2].

Mesure du glucose intracellulaire dans le muscle par SRMN

Pour distinguer les contributions respectives du transport transmembranaire et de l'hexokinase, il est apparu nécessaire de pouvoir mesurer la concentration musculaire en glucose intracellulaire libre, c'est-à-dire non phosphorylé. En effet, la concentration très faible du glucose intracellulaire libre observée en conditions basales est une preuve directe du rôle prépondérant du transport transmembranaire dans le contrôle de l'utilisation du glucose par le muscle. Dans ces conditions, l'activité de l'hexokinase apparaît bien supérieure à celle du transport transmembranaire du glucose ; ce dernier est immédiatement phosphorylé, dès son entrée dans le myocyte. L'exploration du contrôle de l'utilisation du glucose par le muscle en hyperglycémie-hyperinsulinémie nécessite la réalisation d'expériences répétées à différents niveaux glycémiques : la SRMN s'avère alors particulièrement intéressante comme alternative à la technique biopsique. Bien que cette approche macroscopique ne permette pas de distinguer une éventuelle hétérogénéité en fonction des différentes fibres musculaires, une faible concentration de glucose intracellulaire libre pourra être interprétée comme reflétant l'ensemble des myocytes.

La mesure du glucose intracellulaire libre musculaire par SRMN repose là encore sur l'utilisation d'une perfusion de [1-^{13}C]glucose au cours d'un clamp glycémique-insulinémique pour augmenter la sensibilité de la

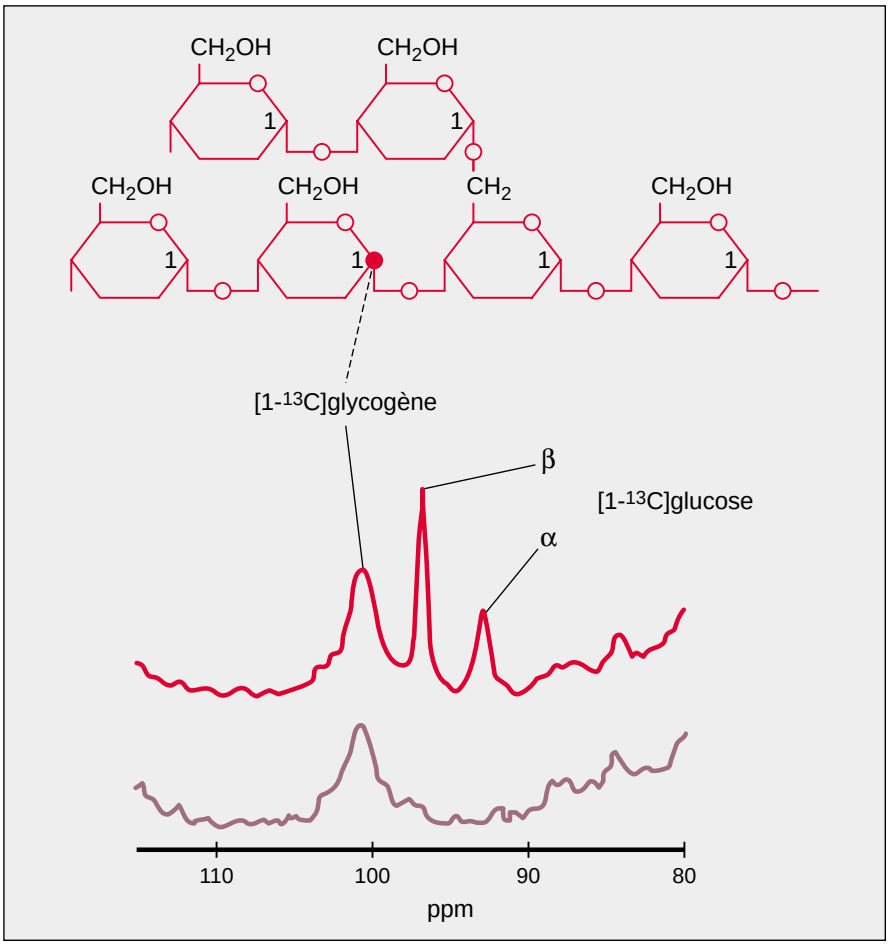

Figure 4. ***Spectres RMN du ^{13}C obtenu sur la jambe d'un volontaire sain dans un aimant à 3 Tesla.*** *L'atome de carbone qui correspond au signal SRMN (carbone 1) est indiqué sur le schéma d'un fragment de glycogène, polymère d'unités glucose. Le tracé du bas a été enregistré en abondance naturelle du ^{13}C: dans la région spectrale représentée seule la résonance du carbone 1 du glycogène (à 100,5 ppm) est observée. Le tracé du haut a été enregistré en euglycémie pendant la perfusion intraveineuse de [1-^{13}C]glucose: les résonances des carbones 1 des deux anomères* α et β du glucose sont alors clairement visibles. L'enrichissement tissulaire du glucose en ^{13}C était d'environ 30 %.*

mesure *(figures 3, 4)*. Le signal détecté en SRMN du ^{13}C au niveau du muscle correspond alors à trois composantes: le glucose extracellulaire (GEC), le glucose intracellulaire libre (GIC) et le G6P *(figure 5)*. En régime stationnaire ces trois composantes se trouvent enrichies de façon identique en ^{13}C, et cet enrichissement peut être déterminé directement sur le glucose plasmatique. Ainsi, la concentration totale GEC + GIC + G6P est obtenue en combinant la SRMN du ^{13}C *in vivo* et la mesure plasmatique de l'enrichissement. La contribution du GEC est mesurée à partir de la concentration du glucose plasmatique (en équilibre avec le secteur interstitiel) en utilisant pour les volumes de distribution du glucose dans le muscle les valeurs obtenues pour l'inuline avec la technique biopsique classique [9]. La concentration musculaire de G6P est mesurée directement par SRMN du ^{31}P. Finalement, par différence, on obtient la concentration musculaire du GIC *(figure 5)*.

* *Anomérie: coexistence de deux isomères (anomères) d'une même molécule d'ose.*

Cette approche expérimentale nouvelle, développée par le groupe du SHFJ à Orsay [3, 10, 11], a été appliquée chez des volontaires sains pour déterminer la concentration de GIC dans les muscles de la jambe en hyperinsulinémie (≈ 300 pM), à trois niveaux glycémiques différents: euglycémie (≈ 6 mM), hyperglycémie modérée (≈ 10 mM) et élevée (≈ 16 mM). Les principaux résultats sont résumés dans le *Tableau I*. En euglycémie la concentration musculaire en GIC n'est pas significativement différente de zéro. Ce résultat confirme des études biopsiques plus anciennes montrant l'absence de GIC pour une glycémie basale: dans cette situation, c'est le transport transmembranaire qui contrôle exclusivement le flux métabolique du glucose dans le muscle.
En revanche, lorsque la glycémie est augmentée, une concentration faible mais statistiquement significative de GIC est observée dans le muscle. Le gradient entre secteur extracellulaire et intracellulaire reste cependant élevé: le rapport GEC/GIC est de 46 en hyperglycémie modérée et de 26 en hyperglycémie élevée. Ces valeurs suggèrent que, dans ces conditions hyperglycémiques hyperinsulinémiques, l'étape de transport transmembranaire reste dominante pour le contrôle du flux de glucose dans le muscle.

Coefficient de contrôle du transport transmembranaire du glucose dans le muscle

La théorie du contrôle du flux permet d'estimer quantitativement à quel degré le transport transmembranaire intervient dans le contrôle de l'utilisation du glucose par le muscle. En utilisant une description symétrique de type Michaelis-Menten pour la cinétique du transport du glucose, le coefficient de contrôle C^T défini par l'équation 1 peut être réécrit:

$$C^T = 1 - (\partial Gi/\partial Ge)\,((Ge+K^m)/(Gi+K^m))^2 \qquad (2)$$

où Ge et Gi sont respectivement les concentrations de GEC et GIC, et où K^m est la concentration de glucose pour laquelle le transport unidirectionnel atteint la moitié de la vitesse

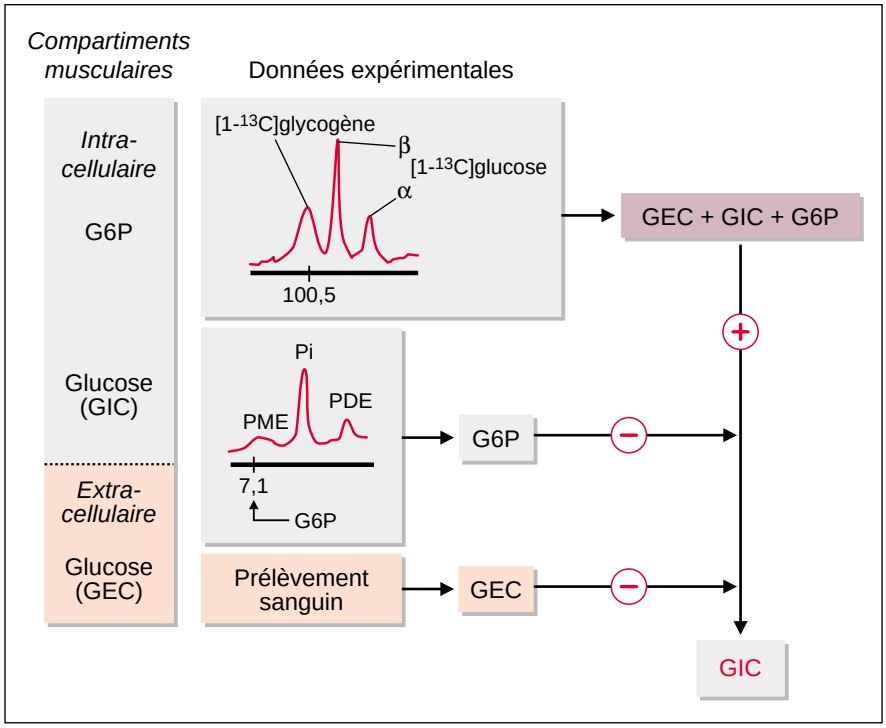

Figure 5. ***Schéma résumant la stratégie expérimentale suivie pour déterminer la concentration de glucose intracellulaire (GIC) dans le muscle en utilisant la spectroscopie RMN* in vivo.** *Le signal détecté en SRMN du ^{13}C au niveau du muscle correspond à trois composantes: le glucose extracellulaire (GEC), le glucose intracellulaire libre (GIC) et le G6P. En régime stationnaire ces trois composantes se trouvent enrichies de façon identique en ^{13}C, et cet enrichissement peut être déterminé directement sur le glucose plasmatique. Ainsi, la concentration totale GEC + GIC + G6P est obtenue en combinant la SRMN du ^{13}C* in vivo *et la mesure plasmatique de l'enrichissement.*

maximale. D'après la littérature cette constante peut être estimée à environ 20 mM en hyperinsulinémie (transport assuré principalement par la protéine GLUT-4), ce qui est cohérent avec les variations expérimentales de vitesse de synthèse de glycogène musculaire en fonction de la glycémie rapportées dans le *Tableau I*. Le terme ∂Gi/∂Ge de l'équation 2 correspond à la variation du GIC pour une variation infinitésimale du GEC. Expérimentalement ce terme peut être estimé à partir des résultats du *Tableau I* en remplaçant les différentielles par des intervalles:

$$\partial Gi/\partial Ge \simeq \Delta Gi/\Delta Ge \qquad (3)$$

Ainsi pour les intervalles de glycémie 6-10 mM et 10-16 mM C^T est estimé respectivement à 0,90 et 0,83. En d'autres termes, lors d'une stimulation par l'insuline (insulinémie ≃ 300 pM), l'étape de transport transmembranaire reste largement dominante entre l'euglycémie et l'hyperglycémie modérée, en assurant 90 % du contrôle de l'utilisation du glucose. Si l'hyperglycémie est plus élevée, la part du contrôle revenant au transport transmembranaire diminue (83 %), mais cette étape reste toujours prépondérante.

Ces résultats démontrent que le transport transmembranaire est, chez le sujet sain, l'étape clé du métabolisme musculaire du glucose, non seulement dans les conditions basales mais aussi en hyperglycémie-hyperinsulinémie. En raison de ce rôle prépondérant dans le contrôle du flux, toute altération pathologique du transport du glucose dans le muscle devrait se traduire par un syndrome d'insulinorésistance, même si, à l'heure actuelle, aucune insulinorésistance ne semble liée à une altération génétique du transporteur GLUT-4. Sur le plan phénotypique, la méthodologie de SRMN développée à Orsay pourra être utilisée pour évaluer l'implication du transport du glucose dans les diverses conditions pathologiques où survient une insulinorésistance musculaire ■

Tableau I

RÉSULTATS EXPRIMÉS EN MOYENNE ± ERREUR STANDARD

Nombre d'expériences	10	5	5
Glycémie *mM*	5,8 ± 0,1	9,9 ± 0,1	16,4 ± 0,2
Glucose intracellulaire *mmol/kg de muscle*	−0,03 ± 0,03	0,15 ± 0,08	0,43 ± 0,20
Vitesse de synthèse du glycogène *µmol/kg de muscle par minute*	111 ± 11	263 ± 29	338 ± 42

Gilles Bloch

Chef de la section recherche et développement méthodologiques.
CEA-DRM, Service hospitalier Frédéric Joliot, 4, place du Général-Leclerc, 91406 Orsay, France.

RÉFÉRENCES

1. Kacser H, Burns JA. The control of flux. *Symp Soc Exp Biol* 1973; 32: 65-104.

2. Shulman RG, Bloch G, Rothman DL. *In vivo* regulation of muscle glycogen synthase and the control of glycogen synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 8535-42.

3. Roussel R, Carlier PG, Robert JJ, Velho G, Bloch G. $^{13}C/^{31}P$ NMR studies of glucose transport in human skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 1313-8.

4. Bloch G, Velho G. Metabolic investigations in humans by *in vivo* nuclear magnetic resonance. *Diabete Met* 1997; 23: 343-50.

TIRÉS À PART

G. Bloch.

RÉFÉRENCES

5. Taylor R, Price TB, Rothman DL, Shulman RG, Shulman GI. Validation of ^{13}C NMR measurement of human skeletal muscle glycogen by direct biochemical assay of needle biopsy samples. *Magn Reson Med* 1992 ; 27 : 13-20.

6. Shulman GI, Rothman DL, Jue T, Stein P, DeFronzo RA, Shulman RG. Quantification of muscle glycogen synthesis in normal subjects and subjects with non-insulin-dependent diabetes by ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *N Engl J Med* 1990 ; 322 : 223-8.

7. Rothman DL, Shulman RG, Shulman GI. ^{31}P nuclear magnetic resonance measurements of muscle glucose-6-phosphate. Evidence for reduced insulin-dependent muscle glucose transport or phosphorylation activity in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1992 ; 89 : 1069-75.

8. Bloch G, Chase JR, Avison MJ, Shulman RG. *In vivo* ^{31}P NMR measurement of glucose-6-phosphate in the rat muscle after exercise. *Magn Reson Med* 1993 ; 30 : 347-50.

9. Sjøgaard G, Saltin B. Extra- and intracellular water spaces in muscles of man at rest and with dynamic exercise. *Am J Physiol* 1982 ; 243 : R271-80.

10. Roussel R, Velho G, Carlier PG, Jouvensal L, Bloch G. *In vivo* NMR evidence for moderate glucose accumulation in human skeletal muscle during hyperglycemia. *Am J Physiol* 1996 ; 271 : E434-8.

11. Roussel R, Carlier PG, Wary C, Velho G, Bloch G. Evidence for 100 % ^{13}C NMR visibility of glucose in human skeletal muscle. *Magn Reson Med* 1997 ; 37 : 821-4.

41es Journées de Biologie Clinique Necker - Institut Pasteur

Paris, 18-20 janvier 1999

COMITÉ D'ORGANISATION

Président

Président : Professeur P. KAMOUN
Biochimie, CHU Necker

Secrétaire Général

Docteur J.F. PAYS
Pathologie Parasitaire et Exotique
CHU Necker

Renseignements et inscriptions

Isabelle Van Laethem
Darbon Van Laethem
101, rue Mademoiselle – 75015 Paris, France
Tél. : 01 45 66 53 42 – Fax : 01 47 83 44 88
E-mail: biodvl@wanadoo.fr

Cours de Biologie Moléculaire de la Cellule

Enseignement pratique

Ce cours, conjointement organisé par l'Institut Pasteur et l'Institut Curie, se déroulera du 8 mars au 9 avril 1999 à plein temps, à l'Institut Pasteur à Paris. Il est destiné à des chercheurs du secteur public et privé, ayant une formation des facultés de sciences, de médecine, de pharmacie ou des écoles vétérinaires. Les candidats doivent avoir une bonne connaissance, niveau maîtrise, en biologie moléculaire. Les techniques de base de biologie moléculaire ne seront pas enseignées (exemple : clonage, séquençage de gènes, etc.). Ce cours donne lieu à un diplôme de l'Institut Pasteur suite à un examen qui se déroulera à la fin du mois d'avril.

Le thème central de ce cours concerne l'étude de la cellule eucaryote. Cet enseignement est très orienté vers l'initiation expérimentale, et fera une large place aux nouvelles techniques ainsi qu'à la démarche scientifique actuelle pour l'étude des fonctions cellulaires. Les travaux pratiques seront accompagnés de conférences théoriques sur les thèmes suivants :

- Organisation fonctionnelle de la cellule : compartiments membranaires, cytosquelette, polarité cellulaire
- Les routages intracellulaires : transport des protéines membranaires et sécrétées, endocytose des macromolécules
- Les contacts et la communication entre cellules
- La différenciation cellulaire
- La signalisation et la transduction des messagers cellulaires
- Le cycle cellulaire

Les techniques mises en œuvre seront celles de l'analyse génétique, la transfection et l'expression de gènes clonés, la culture cellulaire, la reconstitution *in vitro* des fonctions cellulaires, la visualisation des constituants cellulaires y compris par les techniques les plus récentes de microscopie confocale et d'imagerie.

Avec la participation de : S. Amigorena, Ch. Babinet, M. Bornens, R. Bruzzone, P. Cossart, A. Dautry-Varsat, F. Dautry, M. Dubois-Dalcq, S. Dufour, E. Fabre, B. Goud, B. Hoflack, C. Hopkins, E. Karsenti, O. Kellerman, P. Lazarow, P. Legrain, D. Louvard, P. Mangeat, J.-C. Olivo, J. Pouysségur, J.P. Thiéry et M. Weiss. Les cours théoriques seront assurés par des enseignants français et européens.

Responsables du cours : A. Dautry-Varsat et D. Louvard

Renseignements et inscriptions, date limite le 1er décembre 1998

Mme Banisso
Secrétariat des Enseignants et des Stages
Institut Pasteur, 28, rue du Dr-Roux, 75724 Paris Cedex 15, France
Tél. : 01 45 68 81 41 ou 01 40 61 33 62 – Fax : 01 40 61 30 46
E-mail : rbanisso@pasteur.fr