

IBS ACTUALITES



Retrouvez la Lettre Scientifique d'Information de
l'Institut de Biologie Structurale sur :
<http://www.ibs.fr/presentation/lettre-d-info/>

Institut de Biologie Structurale J.P. Ebel
41, rue Jules Horowitz
F-38027 GRENOBLE Cedex 1
Tél. +33 (0)4 38 78 95 50 - Fax +33 (0)4 38 78 54 94
www.ibs.fr

n°25

FEVRIER 2012

Zoom sur ...

Un peptide pour mimer un sucre et inhiber l'entrée du VIH dans les cellules

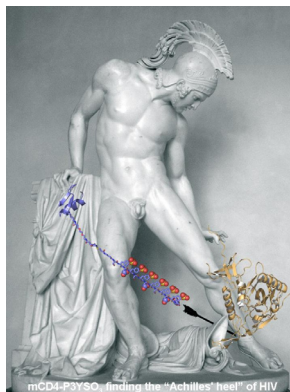
L'entrée du VIH dans les cellules repose sur l'interaction de la protéine virale gp120 avec le récepteur CD4 et les GPCR CCR5 ou CXCR4. Cette double interaction représente donc une cible pharmacologique d'intérêt dans des stratégies visant à inhiber l'entrée du virus.

Dans cette perspective, le groupe SAGAG de l'IBS a solubilisé CCR5 et CXCR4 par un cocktail de lipides et de détergents, permettant de conserver leurs fonctions de reconnaissance, et effectué des mesures d'interactions par SPR entre gp120 et ces récepteurs.

Par ailleurs, des travaux précédents avaient montré que les héparanes sulfate (HS) se liaient à gp120 et interféraient avec l'entrée virale. La complexité des HS ne permettant pas d'identifier aisément les déterminants moléculaires impliqués dans l'interaction, des peptides contenant des sulfotyrosines (dont le nombre et la position peuvent être facilement modifiés) et mimant ces polysaccharides ont été générés.

En combinant ces deux aspects (mesure d'interaction gp120/GPCR et génération de mimétiques d'oligosaccharides), une molécule, appelée mCD4-P3YSO3, a été développée, en collaboration avec l'Institut Pasteur et l'Université d'Orsay. Cette molécule inhibe l'interaction de gp120 avec CD4, CCR5 ou CXCR4 et bloque la réplication d'isolats cliniques du VIH avec des IC50 de 0,5 nM. Ces résultats positionnent ce composé de manière favorable pour le développement d'un inhibiteur du VIH.

A synthetic heparan sulfate-mimetic peptide conjugated to a mini CD4 displays veryhigh anti-HIV-1 activity independently of coreceptor usage. Connell B.J., Baleux F., Coic YM., Clayette P., Bonnaffé D and Lortat-Jacob H. *Chemistry and Biology*, 19: 131-139



EDITO

La liste des travaux présentés dans ce numéro (entrée du virus HIV, expression de transporteurs membranaires, complexes d'organismes extrêmophiles, division cellulaire et différentes méthodologies), reflète encore une fois la force des cinq axes thématiques de l'IBS. Cette visibilité scientifique nous a permis d'être présents dans les projets Investissements d'Avenir, FRISBI et GRAL, qui sont maintenant en marche.

Malgré le froid des dernières semaines, il ne manque plus qu'un seul étage au nouveau bâtiment IBS et nous pouvons déjà imaginer son allure et sa taille.

Avec 31 projets, l'IBS a été à nouveau très actif dans le dépôt des projets ANR Blanc, soit en moyenne 1 projet pour 2 chercheurs. Souhaitons que ces projets rencontreront le succès mérité.

Eva Pebay-Peyroula

Expression de protéines membranaires en système Cell free

Les difficultés rencontrées lors des études structurales de protéines membranaires commencent dès leur expression. Le système de production acellulaire est par conséquent très attractif car il devrait contourner certaines difficultés (insertion dans la membrane, toxicité des protéines membranaires surexprimées). Néanmoins, pour assurer le bon repliement des protéines membranaires, il faut rajouter au milieu de réaction des molécules amphiphiles capables de se complexer aux protéines afin de masquer leur surface hydrophobe.

Nous avons exploré l'expression d'UCP1, une protéine membranaire de la famille des transporteurs mitochondriaux en présence de différents surfactants. L'utilisation de surfactants fluorés a permis d'obtenir des quantités de protéines pures compatibles avec la cristallisation. Le spectre CD d'UCP1 ainsi produite, est comparable au spectre de la protéine extraite de tissus naturels.

Ce travail, réalisé par le groupe Membrane de l'IBS, a fait l'objet d'une collaboration avec une équipe de chimistes de l'université d'Avignon pour la synthèse de nouveaux surfactants, et avec une équipe de l'IBPC Paris, pour les études fonctionnelles d'UCP1. C'est ainsi la 2ème protéine membranaire produite dans le système *in vitro* dans l'équipe. L'expertise acquise, ainsi que la production des extraits cellulaires, sont maintenant à la disposition des utilisateurs de la plate-forme « cell free ».

Production of UCP1 a membrane protein from the inner mitochondrial membrane using the cell free expression system in the presence of a fluorinated surfactant. Blesneac I, Ravaud S, Juillan-Binard C, Barret LA, Zoonens M, Polidori A, Miroux B, Pucci B, Pebay-Peyroula E. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*;1818(3):798-805

Axes thématiques

Axe «Nouvelles approches pour la biologie structurale intégrée»

La réunion annuelle du Club des utilisateurs du Biacore en Rhône-Alpes, organisée par N. Thielens et I. Bally de la plateforme SPR, s'est déroulée à l'IBS le 11 janvier 2012 après-midi. Six utilisateurs lyonnais et grenoblois ont présenté

leurs travaux devant une trentaine de participants, issus de laboratoires académiques et industriels de la région. La réunion s'est terminée par une discussion informelle portant sur différents aspects techniques de l'utilisation du Biacore. La prochaine réunion aura lieu dans un an à l'IBCP de Lyon.

Dernières publications

A diglycosylated fluorinated surfactant to handle integral membrane proteins in aqueous solution.

Abla M, Durand G, Breyton C, Raynal S, Ebel C and Pucci B. *Journal of Fluorine Chemistry*, 134: 63-71

A glycomimetic compound inhibits DC-SIGN-mediated HIV infection in cellular and cervical explant models. Berzi A, Reina JJ, Ottria R, Sutkeviciute I, Antonazzo P, Sanchez-Navarro M, Chabrol E, Biasin M, Trabattoni D, Cetin I, Rojo J, Fieschi F, Bernardi A and Clerici M. *AIDS*, 26: 127-137

A supplementary coil for (2)H decoupling with commercial HCN MAS probes. Huber M, With O, Schanda P, Verel R, Ernst M and Meier BH. *Journal of Magnetic Resonance*, 214: 76-80

Charged multivesicular body protein 2B (CHMP2B) of the endosomal sorting complex required for transport-III (ESCRT-III) polymerizes into helical structures deforming the plasma membrane. Bodon G, Chassefeyre R, Pernet-Gallay K, Martinelli N, Effantin G, Hulsik DL, Belly A, Goldberg Y, Chatellard-Causse C, Blot B, Schoehn G, Weissenhorn W and Sadoul R. *Journal of Biological Chemistry*, 286: 40276-40286

Cryo-electron microscopy of ribosomal complexes in cotranslational folding, targeting, and translocation. Knoops K, Schoehn G and Schaffitzel C. *Wiley Interdisciplinary Reviews RNA*, in press

Density contrast sedimentation velocity for the determination of protein partial-specific volumes. Brown PH, Balbo A, Zhao H, Ebel C and Schuck P. *PLoS ONE*, 6: e26221

Effects of hydrostatic pressure on the quaternary structure and enzymatic activity of a large peptidase complex from *Pyrococcus horikoshii*. Rosenbaum E, Gabel F, Durá MA, Finet S, Cléry-Barraud C, Masson P and Franzetti B. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 517: 104-110

Fast protein backbone NMR resonance assignment using the BATCH strategy. Brutscher B and Lescop E. *Methods in Molecular Biology*, 831: 407-428

Generation and biological properties of a recombinant dodecahedron containing the short fiber protein of the human adenovirus 41. Siqueira-Silva J, Fenel D, Gout E, Yeda FP, Marinheiro JC, Barrella KM, Silva ML, Schoehn G, Harsi CM and Fender P. *Intervirology*, in press

High hydrostatic pressure equipment for neutron scattering studies of samples in solution. Peters J, Trapp M, Hughes D, Rowe S, Demé B, Laborier JL, Payre C, Gonzales JP, Baudoin S, Belkhier N and Lelièvre-Berna E. *High Pressure Research*, in press

iHADAMAC: a complementary tool for sequential resonance assignment of globular and highly disordered proteins. Feuerstein S, Plevin MJ, Willbold D and Brutscher B. *Journal of Magnetic Resonance*, 214: 329-334

Isolation and analysis of cell wall components from *Streptococcus pneumoniae*. Bui NK, Eberhardt A, Vollmer D, Kern T, Bougault C, Tomasz A, Simorre J-P and Vollmer W. *Analytical Biochemistry*, in press

Lipid nanoparticle vectorization of IndoCyanine Green improves fluorescence imaging for tumor diagnosis and lymph node resection. Navarro FP, Berger M, Guillermet S, Josserand V, Guyon L, Neumann E, Coll JLR, P. and Texier I. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, in press

M-ficolin and leukosialin (CD43): new partners in neutrophil adhesion. Moreno-Amaral AN, Gout E, Danella-Polli C, Tabarin F, Lesavre P, Pereira-da-Silva G, Thielens NM and Halbwachs-Mecarelli L. *Journal of Leukocyte Biology*, in press

Mutational dissection of the S/T-kinase StkP reveals crucial roles in cell division of *Streptococcus pneumoniae*. Fleurie A, Cluzel C, Guiral S, Fretton C, Galisson F, Zanella-Cleon I, Di Guilmi AM and Grangeasse C. *Molecular Microbiology*, in press

Oligomerization paths of the nucleoprotein of influenza A virus. Tarus B, Bakowicz O, Chenavas S, Duchemin L, Estrozi LF, Bourdieu C, Lejal N, Bernard J, Moudjou M, Chevalier C, Delmas B, Ruigrok RW, Di Primo C and Slama-Schwok A. *Biochimie*, in press

Stress regulation of the PAN-proteasome system in the extreme halophilic archaeon *Halobacterium*.

Chamieh H, Marty V, Guetta D, Perollier A and Franzetti B. *Extremophiles*, in press

Studies on the parameters controlling the stability of the TET peptidase superstructure from *Pyrococcus horikoshii* revealed a crucial role of pH and catalytic metals in the oligomerization process.

Rosenbaum E, Ferruit M, Durá MA and Franzetti B. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins & Proteomics*, 1814: 1289-1294

The C-terminal polyproline-containing region of ELMO contributes to an increase in the life-time

of the ELMO-DOCK complex. Sévajol M, Reiser J-B, Chouquet A, Pérard J, Ayala I, Gans P, Kleman J-P and Housset D. *Biochimie*, in press

The human C1q globular domain: structure and recognition of non-immune self ligands. Gaboriaud C, Frachet P, Thielens N and Arlaud GJ. *Frontiers, in Immunology*, in press

The role of nanometer-scaled ligand patterns in polyvalent binding by large mannan-binding lectin oligomers. Gjelstrup LC, Kaspersen JD, Behrens MA, Pedersen JS, Thiel S, Kingshott P, Oliveira CL, Thielens NM and Vorup-Jensen T. *Journal of Immunology*, 188: 1292-1306

Rencontres scientifiques

● **15eme conférence du Groupe d'Etudes des Membranes, 2 au 4 avril 2012, Paris :** le GEM, un sous-groupe thématique de la Société Française de Biophysique, organise un congrès sur les derniers développements en matière de protéines membranaires, que ce soit d'un point de vue physique, chimique ou biologique. L'inscription et la soumission d'abstract est possible sur <http://gem15.fr/>, ou auprès de F. Fieschi (IBS/MP), membre du comité scientifique de ce congrès.

● **Atelier «Détermination de la Structure des protéines par RMN», 21 au 25 Mai 2012, IBS :** le groupe de RMN biomoléculaire de l'IBS et le Laboratoire de Chimie et de Biologie Structurales de l'ICSN organisent une formation pratique avancée destinée à fournir aux participants les outils nécessaires à l'étude structurale des protéines par RMN du liquide. Inscription avant le 20 avril (nombre de places limité à 18).

● **XXVe Conférence internationale sur la résonance magnétique dans les systèmes biologiques, 19 au 24 aout 2012, Lyon :** cette conférence vise à faire le point sur les nouveaux développements et les applications biologiques impliquant la RMN en solution, la RMN du solide, la résonance paramagnétique électronique, la RMN *in vivo*, la métabolomique et l'IRM. M. Blackledge (IBS / FDP) est membre du comité scientifique de cette conférence, considérée comme l'un des congrès majeurs dans le domaine de la résonance magnétique en biologie.

Pour plus de détails sur ces événements, consulter <http://www.ibs.fr/seminaires-et-evenements/congres-et-ateliers/>

Nouvelle plate-forme

La plateforme Cell Free est maintenant ouverte aux utilisateurs. Elle s'appuie sur l'expertise des groupes transporteurs membranaires, membrane & pathogenes et RMN biomoléculaire pour la production grande échelle par synthèse *in vitro* d'ARN et de protéines solubles ou membranaires (cf zoom). La plateforme propose notamment la mise à disposition de tests de criblage et de faisabilité, de protocoles de production optimisés et d'une paillasse en environnement RNase Free pour former et

accueillir les utilisateurs. Le formulaire de demande d'étude est disponible en ligne sur www.ibs.fr, à la page de la plateforme Cell Free. Contact: lionel.imbert@ibs.fr.



Prix et distinctions

T.Vernet vient d'être nommé membre du conseil scientifique du département «Microbiologie et chaîne alimentaire (MICA) de l'INRA pour la période 2011 - 2015.

Nouveaux arrivants

Nous souhaitons bonne chance à Jacques JOLY qui a rejoint l'INSA de Villeurbanne en mai, ainsi qu'à Laurence SERRE qui a rejoint Grenoble Institut des Neurosciences début janvier.

- Yoann SALLAZ-DAMAZ a été embauché dans le groupe GSY en tant qu'ingénieur de recherche CNRS, en remplacement de Jacques Joly. Il aura en charge l'étude, la conception et la mise en oeuvre de solutions informatiques dans le domaine de l'instrumentation scientifique sur la ligne de lumière FIP,
- Paul GUERRY a été recruté comme chercheur pour un CDD de 2 ans dans le groupe FDP. Il travaillera sur le rôle de la dynamique conformationnelle dans la promiscuité de la protéine Ubiquitine, et la caractérisation des mouvements lents dans la reconnaissance entre Ubiquitine et ses partenaires cellulaires,
- Ekaterina ROUND a été recrutée comme chercheuse pour un CDD d'un an dans le groupe MEMBRANE. Elle travaillera sur le développement de méthodes de cristallisation *in meso* à haut débit de protéines membranaires, la cristallisation et études structurales du transporteur glutamate,
- Ombeline PESSEY a été recrutée pour un CDD d'un an en tant qu'assistante ingénieur dans le groupe IRPAS. Elle travaillera sous la direction de D. Housset sur la production et la cristallisation de complexes TCR-peptide-CMH,

- Guillaume TOURCIER a été embauché en tant que technicien dans le groupe Pneumocoque pour un CDD d'un an. Il travaillera à la valorisation d'un brevet,
- Hubert MAYERHOFER démarrera un post-doc de 8 mois dans le groupe Membrane, sous la direction de S. Ravaud. Il étudiera des transporteurs membranaires de nucléotides,
- Yann FICHOU et Gianluca SANTONI démarrent une thèse dans le groupe DYNAMOP sous la direction de de Martin Weik. Yann étudiera le rôle de l'eau en biophysique macromoléculaire et Gianluca explorera la dynamique structurale de l'acétylcholinesterase,
- Laurène MARCHAND et Yann HUON DE KERMADEC ont démarré une thèse dans le groupe MEMBRANE en octobre 2011 sous la direction d'E. Pebay-Peyroula. Laurène Marchand étudiera le transporteur ATP/ADP des chloroplastes. Yann, co-encadré par D. Willbold de FZJ Julich (dans le cadre de l'accord entre IBS et ce centre de recherche), s'intéressera à l'utilisation des nanodisques pour intégrer les protéines membranaires et conduire à leur caractérisation,
- Marina IANNELLO a été recrutée pour un CDD de 6 mois en tant qu'assistant ingénieur dans le groupe IRPAS. Elle travaillera à la production et la cristallisation de fragments de calréticuline de *Trypanosoma cruzi*, sous la direction de C. Gaboriaud.

Soutenances de thèses

- le 01/02 à 14h, Malene Ringkjøbing Jensen (IBS/FDP) a soutenu son HDR, intitulée "Characterising disordered proteins using nuclear magnetic resonance spectroscopy : Recent developments and future perspectives",
- le 28/02 à 14h, Shahid Mehmood (IBS/M&P) soutiendra sa thèse, intitulée "Structural characterization of membrane proteins by hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry",
- le 16/03 à 14h, Bridgette Janine Connell (IBS/SAGAG) soutiendra sa thèse, intitulée "Development of a binding assay between the HIV-1 envelope protein (gp120) and coreceptors CCR5/CXCR4 by surface plasmon resonance: screening and optimization of viral entry inhibitors",
- le 20/03 à 14h, Eve de Rosny (IBS/Metallo) soutiendra son HDR, intitulée "Etudes structurales et mécanistiques de protéines impliquées dans le déclenchement de processus biologiques».

Directeur de la publication
Comité de rédaction
Correspondants de groupes



E. Pebay-Peyroula

J. Boisbouvier, G. Eminet, E. Forest, J.M. Jault, O. Kaïkati, J. Neyton, J.L. Parouty
M. Blackledge, J. Boisbouvier, A. Dessen, J.L. Ferrer, F. Fieschi, J. Fontecilla,
B. Franzetti, H. Lortat-Jacob, E. Neumann, J. Peters, C. Petosa, A. Remeeva,
N. Thielens, T. Vernet, M. Vivaudou

Contributeurs aux Zooms de février : H. Lortat-Jacob & E. Pebay-Peyroula