

SOMMAIRE

ZOOMS SUR

Un commutateur de cellules contrôlé
par la lumière p. 2

La danse des molécules d'eau qui
active les protéines p. 2

Structure et dynamique du complexe
de signalisation JNK-MKK7 p. 2

PUBLICATIONS

..... p. 3

NOUVELLES EQUIPES

NOUVEAUX EQUIPEMENTS

..... p. 4

RENCONTRES SCIENTIFIQUES

..... p. 5

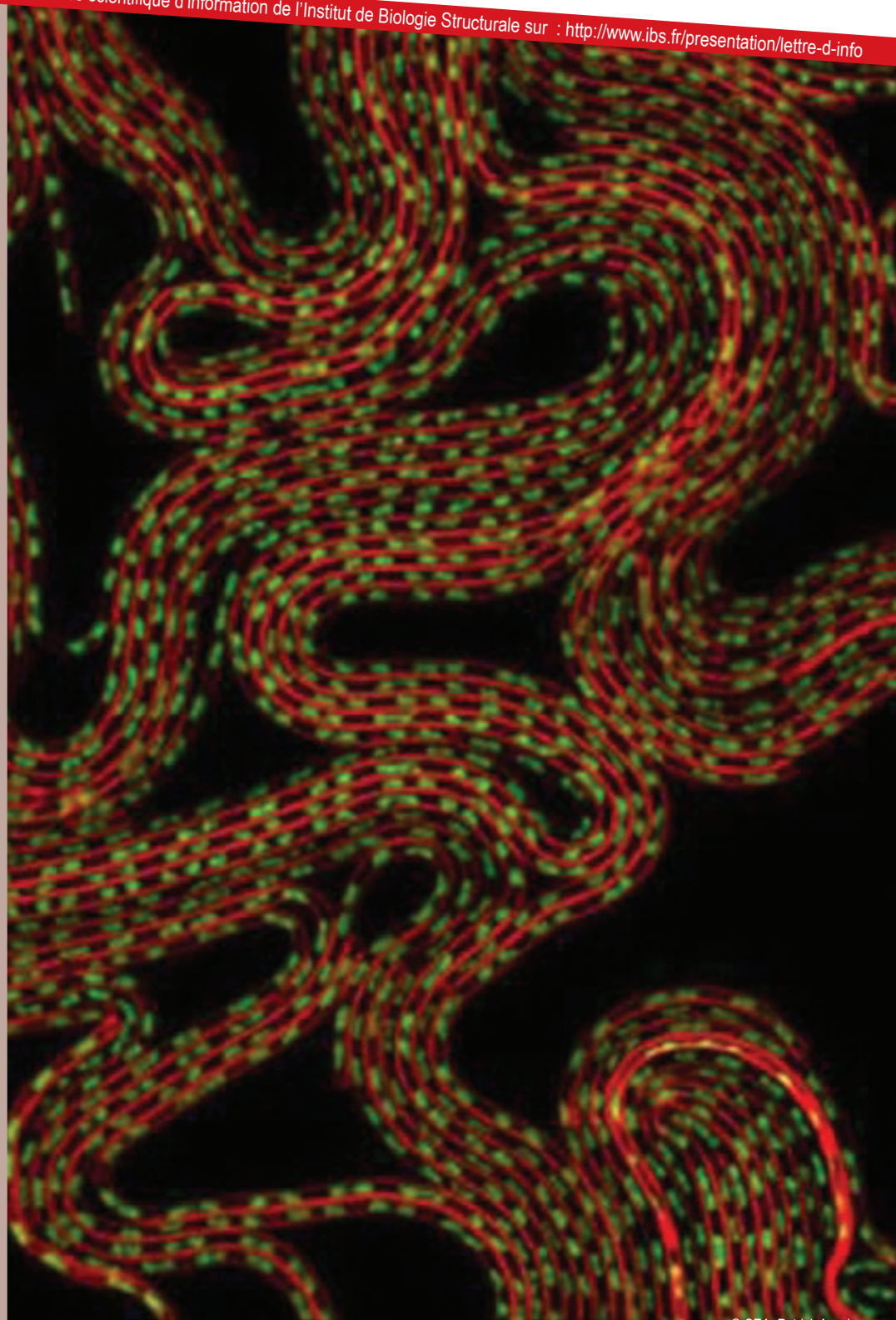
PRIX & DISTINCTIONS

SECURIITE

INFOS PRATIQUES

NOUVEAUX ARRIVANTS

..... p. 6



© CEA, Patrick Avarian

Institut de Biologie Structurale

71 avenue des Martyrs, CS10090

F-38044 GRENOBLE Cedex 9

Tél. +33 (0)4 38 78 95 50- Fax +33 (0)4 38 78 54 94

www.ibs.fr



Directeur de la publication :

Comité de rédaction :

Correspondants

pour la rédaction des rubriques :

Contributeurs aux zooms de ce numéro :

W. Weissenhorn

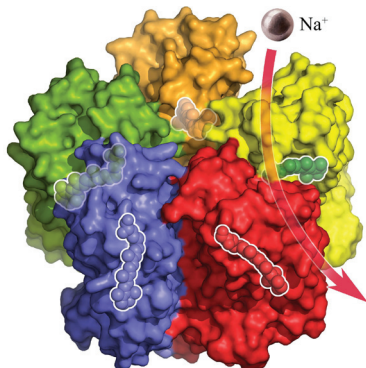
C. Breyton, O. Cavoret, D. Madern, J. Neyton, C. Petosa,
M. Ringkjøbing-Jensen, J.P. Simorre

P. Amara, M. Blackledge, D. Bourgeois, A. Dessen, J.L. Ferrer, F.
Fieschi, B. Franzetti, D. Housset, H. Lortat-Jacob, E. Neumann,
H. Nury, C. Petosa, J.P. Simorre, T. Vernet, M. Vivaudou

V. Gordeliy, M. Ringkjøbing-Jensen, M. Weik

ZOOM SUR...
UN COMMUTATEUR DE CELLULES CONTROLÉ PAR LA LUMIÈRE

Une équipe du groupe MEMBRANE de l'IBS, en collaboration avec des équipes de Jülich, Frankfurt et Moscou, a résolu la structure atomique de *Krokinobacter eikastus* rhodopsin 2 (KR2), une pompe à sodium de la famille des bactériorhodopsines, qui répondent à l'excitation lumineuse et changent de couleur via des modifications ultra rapides. Les structures obtenues (dans un état monomérique et deux états pentamériques) permettent d'identifier le trajet suivi par la translocation transmembranaire des ions et mettent notamment en évidence (i) du côté cytoplasmique, la présence d'une cavité très large pour le chargement de l'ion transporté et (ii) du côté extracellulaire une cavité de relargage de l'ion transporté qui est recouverte par une hélice N-terminale. L'obstruction partielle de cette cavité par la mutation G263F confère à KR2 la propriété de pomper les ions potassium. Les structures révèlent également la présence d'un site de liaison du sodium à l'interface d'oligomérisation de la protéine.

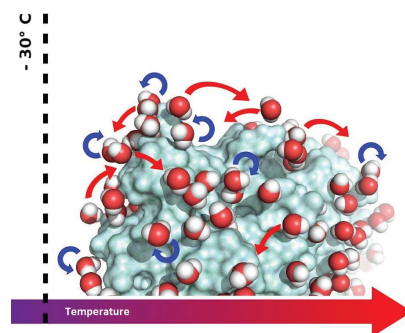


L'ensemble de ces résultats permettent une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires mis en jeu dans ces pompes à cations et pourraient avoir des applications intéressantes en optogénétique. En effet, une telle pompe à potassium pourrait s'avérer idéale pour inhiber des neurones ou des cellules musculaires.

Crystal structure of a light-driven sodium pump. Ivan Gushchin, Vitaly Shevchenko, Vitaly Polovinkin, Kirill Kovalev, Alexey Alekseev, Ekaterina Round, Valentin Borshchevskiy, Taras Balandin, Alexander Popov, Thomas Gensch, Christoph Fahlke, Christian Bamann, Dieter Willbold, Georg Büldt, Ernst Bamberg & Valentin Gordeliy. *Nature Structural & Molecular Biology* DOI: 10.1038/nsmb.3002

UNE DANSE DE L'EAU QUI ACTIVE LES PROTÉINES

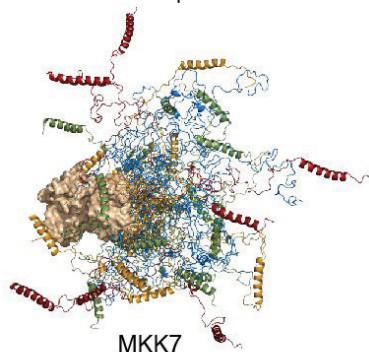
L'eau d'hydratation est essentielle à la dynamique et au bon fonctionnement biologique des protéines. L'équipe DYNAMOP de l'IBS, en collaboration avec l'ILL, UC Irvine, MLZ Garching, ANSTO Australie, Max Planck Institut Mülheim et Univ. Perugia, a mis en évidence le mécanisme moléculaire reliant la dynamique de l'eau à la dynamique et l'activité des protéines. Au cours de cette étude, les chercheurs ont pu « visualiser » le mouvement des molécules d'eau à la surface des protéines grâce à l'utilisation de techniques biophysiques de pointe. Ils ont ainsi constaté qu'à une température inférieure à -30°C , où les protéines perdent leur activité, ces molécules d'eau de surface possèdent uniquement un mouvement de rotation sur elles-mêmes. Lorsque la température est supérieure à -30°C , en plus des mouvements de rotation observés à plus basse température, les molécules d'eau commencent à exercer une diffusion translationnelle. C'est donc la capacité de l'eau à « danser » à la surface des protéines qui rend ces dernières suffisamment dynamiques pour être fonctionnelles. Pour mener à bien cette étude, les chercheurs ont utilisé la technologie de diffusion de neutrons combinée à des simulations de dynamique moléculaire. De plus, afin de masquer le signal des protéines et ne garder que celui des molécules d'eau à leur surface, ils ont eu recours à la production de protéines deutérées. Ces résultats fondamentaux permettent de mieux comprendre les conditions nécessaires à l'activité biologique des protéines. Des applications peuvent être envisagées, par exemple, pour contrôler la stabilité à l'état solide de protéines thérapeutiques, telle que l'insuline utilisée comme traitement du diabète..



Translational diffusion of hydration water correlates with functional motions in folded and intrinsically disordered proteins. Giorgio Schirò, Yann Fichou, François-Xavier Gallat, Kathleen Wood, Frank Gabel, Martine Moulin, Michael Hartlein, Matthias Heyden, Jacques-Philippe Colletier, Andrea Orecchini, Alessandro Paciaroni, Joachim Wuttke, Douglas Tobias, Martin Weik. *Nature Communications*; DOI : 10.1038/ncomms7490

STRUCTURE ET DYNAMIQUE DU COMPLEXE DE SIGNALISATION JNK-MKK7

Les protéines MAPKs (mitogen-activated protein kinases) sont des composantes essentielles du réseau de transduction du signal permettant aux cellules de répondre aux stimuli extracellulaires. La spécificité de signalisation est régulée par des domaines intrinsèquement désordonnés des MAPK kinases (MKK) qui interagissent spécifiquement avec les MAPKs apparentées pour former des complexes de signalisation hautement flexibles.



Le groupe FDP de l'IBS, en collaboration avec des chercheurs de l'EMBL (Grenoble), a réussi à obtenir, par RMN, un modèle décrivant l'ensemble des conformations adoptées par la kinase MKK7, une protéine qui comprend un domaine désordonné de 100 acides aminés. En outre, ils ont pu caractériser la structure, la dynamique, la cinétique, l'affinité et la stœchiométrie du complexe de signalisation composé du domaine désordonné de MKK7 et de sa kinase apparentée JNK. Les résultats de RMN et de cristallographie révèlent que MKK7 peut interagir avec JNK en utilisant deux modes de liaison différents qui, respectivement, induisent un état « actif » et un état « inactif » de la kinase JNK. Ces résultats montrent comment les domaines désordonnés interviennent pour réguler non seulement la spécificité de signalisation dans les voies MAPK, mais aussi, potentiellement, l'activité des kinases apparentées.

Structure and dynamics of the MKK7-JNK signaling complex. Kragelj J, Palencia A, Nanao MH, Maurin D, Bouvignies G, Blackledge M, Jensen MR. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*; 112(11):3409-14

PUBLICATIONS

Acidosis increases MHC class II-1 restricted presentation of a protein endowed with a pH-dependent heparan sulphate binding ability. Knittel D., Savatier A., Upert G., Lortat-Jacob H. and Léonetti M. *Journal of Immunology* ; 194(8):3601-11

Alteration of the langerin oligomerization state affects birbeck granule formation. Chabrol E, Thépaut M, Dezutter-Dambuyant C, Vivès C, Marcoux J, Kahn R, Valladeau-Guilemond J, Vachette P, Durand D, Fieschi F. *Biophysical Journal*; 108(3):666-77

Analytical ultracentrifugation and preliminary X-ray studies of the chloroplast envelope quinone oxidoreductase homologue from *Arabidopsis thaliana*. Mas y mas S, Guistini C, Ferrer J-L, Rolland N, Curien G and Cobessi D. *Acta Crystallographica Section F - Structural Biology Communications*; 71(Pt 4):455-8

Anti-Obesity Strategy Targets Energy Economy Safeguards. Vivaudou M, Terzic A. *Molecular Therapy* ; 23(4):615-6

A Threonine Stabilizes the NiC and NiR Catalytic Intermediates of [NiFe]-hydrogenase. Abou-Hamdan A, Ceccaldi P, Lebrette H, Gutiérrez-Sanz O, Richaud P, Cournac L, Guigliarelli B, de Lacey AL, Léger C, Volbeda A, Burlat BE, Dementin SE. *Journal of Biological Chemistry* ; 290(13):8550-8

Designing nanomolar antagonists of DC-SIGN-mediated HIV infection: ligand presentation using molecular rods. Ordanini S, Varga N, Porkolab V, Thépaut M, Belvisi L, Bertaglia A, Palmioli A, Berzi A, Trabattoni D, Clerici M, Fieschi F, Bernardi A. *Chemical Communications (Camb)*; 51(18):3816-9

FtsZ filament capping by MciZ, a developmental regulator of bacterial division. Bisson-Filho AW, Discola KF, Castellen P, Blasios V, Martins A, Sforça M, Garcia W, Zeri AC, Erickson HP, Dessen A, and Gueiros-Filho FJ. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, in press

Heparan sulfate-dependent enhancement of henipavirus infection. Mathieu C, Dhondt KP, Châlons M, Mély S, Raoul H, Negre D, Cosset FL, Gerlier D, Vivès RR, Horvat B. *MBio*; 6(2):e02427

Ion channel reporter for monitoring the activity of engineered GPCRs. Moreau CJ, Niescierowicz K, Caro L, Revilloud J, Vivaudou M. *Methods in Enzymology*, in press

Langerin-Heparin Interaction: Two Binding Sites for Small and Large Ligands as revealed by a combination of NMR Spectroscopy and Cross-Linking Mapping Experiments. Muñoz-García JC, Chabrol E, Vives RR, Thomas A, de Paz JL, Rojo J, Imberty A, Fieschi F, Nieto PM, Angulo J. *Journal of the American Chemical Society* ; 137(12):4100-10

Micellar and biochemical properties of a propyl-ended fluorinated surfactant designed for membrane-protein study. Abela M, Unger S, Keller S, Bonnet F, Ebel C, Pucci B, Breyton C, Durand G. *Journal of colloid and interface science* 445:127-136

Novel insights into nickel import in *Staphylococcus aureus*: the positive role of free histidine and structural characterization of a new thiazolidine-type nickel chelator. Lebrette H, Borezée-Durant E, Martin L, Richaud P, Boeri Erba E, Cavazza C. *Metallomics*, DOI: 10.1039/C4MT00295D

Response of CnrX from *Cupriavidus metallidurans* CH34 to nickel binding. Maillard AP, Künnemann S, Große C, Volbeda A, Schleuder G, Petit-Härtlein I, de Rosny E, Nies DH, Covès J. *Metallomics*, DOI: 10.1039/C4MT00293H

Structural Analysis of a Feline Norovirus Protruding Domain. Singh B, Glatt, S, Ferrer JL, Koromyslova A, Leuthold M, Dunder J and Hansman GS. *Virology* 474: 181-185

Structural biology turned on its head. Bouvignies G, Blackledge M. *ChemBioChem*, doi: 10.1002/cbic.201500101

Tail proteins of phage T5: Investigation of the effect of the His6-tag position, from expression to crystallisation. Noirclerc-Savoye M, Flayhan A, Pereira C, Gallet B, Gans P, Ebel C, Breyton C. *Protein Expression and Purification*; 109C:70-78.

The SH3 regulatory domain of the hematopoietic cell kinase Hck binds ELMO via its polyproline motif. Awad, R., Sévajol, M., Ayala, I., Chouquet, A., Frachet, P., Gans, P., Reiser, JB & Kleman, JP. *FEBS Open Bio*, 5, 99–106

***Toxoplasma gondii*: Biochemical and biophysical characterization of recombinant soluble dense granule proteins GRA2 and GRA6.** Bittame A, Effantin G, Pêtre G, Ruffiot P, Travier L, Schoehn G, Weissenhorn W, Cesbron-Delauw MF, Gagnon J, Mercier C. *Biochemical and Biophysical Research Communications*; 459(1):107-12

PRIX ET DISTINCTIONS

Malene Ringkjøbing Jensen (IBS/FDP) est lauréate de la Médaille de bronze du CNRS pour l'année 2015. Cette médaille récompense le premier travail d'un(e) chercheur, qui fait de elle/ lui un(e) spécialiste de talent dans son domaine.

Le domaine d'étude de Malene Jensen porte sur les protéines intrinsèquement désordonnées, une classe de protéines qui reste fonctionnelle malgré l'absence d'une structure tridimensionnelle bien définie. De nombreuses protéines désordonnées sont impliquées dans des maladies humaines, et Malene cherche à comprendre les mécanismes moléculaires qui contrôlent la fonction de ces protéines pour éventuellement pouvoir proposer des stratégies pharmacologiques.

En utilisant des données expérimentales de RMN en combinaison avec des approches informatiques, Malene Jensen a pu contribuer à la compréhension du rôle joué par des protéines désordonnées dans le système de transcription et réplication du virus de la rougeole et d'autres membres de la famille des *Paramyxoviridae*.

Elle cherche actuellement à comprendre comment les protéines désordonnées contribuent à la spécificité de signalisation dans les voies de signalisation cellulaire MAPK (mitogen-activated protein kinases).

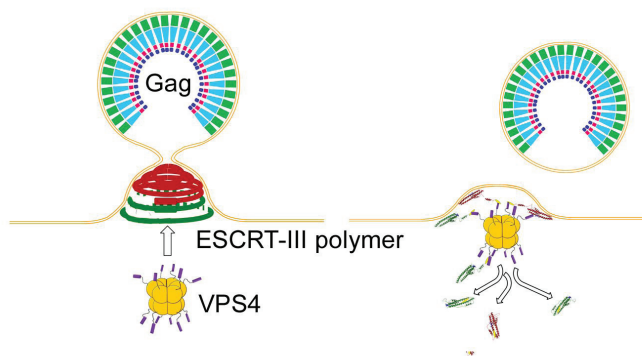
PRESENTATION DU GROUPE EBEBV

Les activités de recherches principales du groupe «Entrée et bourgeonnement des virus enveloppés» (EBEBV), dirigé par Winfried Weissenhorn, sont centrées sur les différents aspects du cycle de vie du VIH étudiés par des méthodes de biologie structurale.

Notre premier objectif est de caractériser les conformations différentes de la glycoprotéine d'enveloppe (Env) du VIH : cette protéine est la cible majeure pour les anticorps, qui peuvent neutraliser le virus et ainsi contrôler l'infection. Env subit de multiples changements de conformation afin de catalyser l'entrée du virus dans la cellule hôte. Il est donc important de comprendre les différentes conformations et en particulier celles qui sont reconnues par des anticorps neutralisants à large spectre. Nous étudions une des conformations d'Env dans le but de la stabiliser pour que cette glycoprotéine d'enveloppe puisse induire des anticorps neutralisants par vaccination et ainsi empêcher l'infection virale.

Le deuxième objectif vise à obtenir une compréhension complète de la machinerie cellulaire mise en œuvre par le virus pour s'échapper de la cellule : les virus enveloppés expriment des protéines structurales qui, en interagissant avec des protéines cellulaires de l'hôte, facilitent l'assemblage des particules virales au niveau des membranes cellulaires ainsi que le bourgeonnement des virus par la fission membranaire. Nous étudions plus particulièrement les protéines du complexe cellulaire ESCRT (Endosomal Sorting Complex Required for Transport) qui catalysent à la fois le bourgeonnement des virus enveloppés comme le VIH, mais également la formation des corps multi vésiculaires et les dernières étapes de la cytokinèse.

Notre troisième objectif consiste à comprendre la structure et la fonction des facteurs immunitaires innés : les premières phases d'infection virale induisent la production de l'interféron qui produit des facteurs immunitaires innés, qui servent comme une première ligne de défense antivirale. Notre groupe s'intéresse aux facteurs de restriction qui ciblent l'entrée ou le bourgeonnement des virus enveloppés comme par exemple la tetherin, qui conduit à la dégradation des virus tel le VIH, en absence d'un antagoniste de tetherin.



Model des complexes ESCRT catalysant la dernière étape du bourgeonnement du VIH

Lorsque l'assemblage de la polyprotéine virale Gag à la membrane est réalisé, les protéines ESCRT polymérisent en filament (vert et rouge) qui forment des structures ressemblant un dôme (rouge) dans le cou membranaire. Ces polymères ont une haute affinité pour la membrane et peuvent induire la constriction du cou membranaire jusqu'à la fission, avec l'aide de l'ATPase de type AAA qui en même temps dépolymérise les filaments d'ESCRT.

PRÉSENTATION DE L'ÉQUIPE AFM/MEM

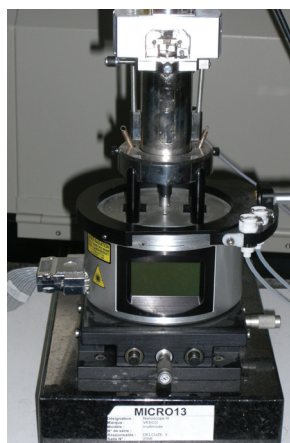
L'activité du Laboratoire Interactions et Reconnaissance Moléculaires du site de Marcoule vient de s'installer à l'Institut de Biologie Structurale. L'équipe comprend un chercheur et un ingénieur, permanents du CEA et a intégré le groupe de Microscopie Electronique et Méthodes (MEM).

L'équipe AFM a pour objectif de développer des techniques d'analyse de microscopie à force atomique (AFM) dans les trois axes majeurs que sont l'imagerie haute résolution, la mesure de spectroscopie dynamique de force et la nano-biomécanique cellulaire. En particulier, l'équipe développe une nouvelle approche en biologie structurale intégrée qui consiste à reconstruire des complexes protéiques composés de plusieurs unités structurales. Une des thématiques scientifiques propres concerne la détermination structurale du complexe de la prothrombinase humaine. Enfin, l'équipe envisage de développer plus en avant les approches de mécaniques cellulaires, projet transversal sur les thématiques de l'IBS.

NOUVEAUX EQUIPEMENTS

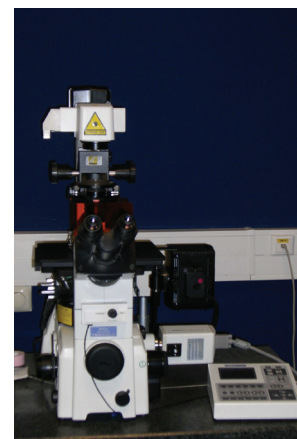
- L'équipe AFM du groupe MEM apporte à l'IBS trois microscopes (deux AFMs et un Fluo) :

un ancien Dimension 3100 de Bruker avec un contrôleur Nanoscope V et un système à boucle fermée qui a la possibilité d'accueillir des échantillons de grandes tailles (quelques centimètres)



un Multimode 8 de Bruker avec un contrôleur Nanoscope V qui possède le dernier mode d'imagerie de PeakForce Tapping ainsi que le mode QNM (Quantitative NanoMechanics)

un microscope à fluorescence Nikon Eclipse TE2000.



• Un nouvel appareil CFX connect de Bio-Rad est disponible à l'IBS. Il s'agit d'un thermocycleur adapté à la PCR quantitative et au «Thermal Shift Assay». C'est un appareil de dernière génération remplaçant un ancien appareil, il est hébergé par RobioMol (plateforme ISBG).

Contact : Anne-Marie.Villard@ibs.fr

RENCONTRES SCIENTIFIQUES

RÉUNION DES FUTURS UTILISATEURS DE LA STATION DE BIO-CRISTALLOGRAPHIE NEUTRONIQUE DE LA SOURCE EUROPÉENNE À SPALLATION, 23-24 MARS 2015, IBS

Cette réunion avait pour objectif :

- De présenter la future ligne de cristallographie des protéines de l'«European Spallation Source» (ESS) en construction en Suède et les possibilités qu'elle offrira à la communauté française des cristallographes des macromolécules biologiques ;
- De présenter les premiers choix effectués au niveau du dispositif expérimental, et donc de recueillir les avis afin d'affiner ces choix ;
- De recenser les besoins, afin d'aider à orienter les choix budgétaires.

Environ 25 personnes ont assisté à cette réunion qui, outre une introduction sur la future station NMX, incluait des présentations de résultats obtenus aux neutrons, ou relatives à la méthodologie et l'instrumentation pour la cristallographie aux neutrons, avec de larges plages de discussion.



ATELIER FRISBI-GRAL SUR L'ANALYSE D'IMAGE EN MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE ET LA DÉTERMINATION DES STRUCTURES TRIDIMENSIONNELLES DES COMPLEXES MACROMOLÉCULAIRES PAR CRYO-MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE, DU 30 MARS AU 02 AVRIL 2015, EMBL GRENOBLE

le professeur Pawel Penczek (directeur du « Structural Biology Imaging Center at the University of Texas Health Science Center at Houston ») a présenté les dernières techniques d'analyse d'images qu'il a développées et qu'il applique à la microscopie électronique. Les présentations théoriques et les travaux pratiques (soit sur des données modèles, soit sur des données personnelles) se sont succédés tout au long de l'atelier. Cet atelier, porté par Irina Gutsche (UVHCI) et organisé conjointement par l'IBS, l'UVHCI et l'EMBL, a rassemblé une vingtaine d'élèves dont le tiers externe à Grenoble. Il a été hébergé par l'EMBL et a bénéficié du soutien logistique de l'équipe informatique de l'UVHCI et du soutien financier de Frisbi et Gral.

FORMATION ATELIER PRATIQUE EN RMN, 18 AU 22 MAI 2015, IBS

Le groupe de RMN biomoléculaire de l'IBS, le Laboratoire de Chimie et de Biologie Structurales de l'ICSN (Gif-sur-Yvette) et l'équipe de Structure et Dynamique des polymères biologiques par Résonance Magnétique Nucléaire de l'IGBMC (Strasbourg) organisent une formation pratique avancée intitulée «Détermination de la structure des protéines par RMN». Cet atelier fournira aux participants les outils modernes nécessaires à l'étude structurale des protéines par RMN du liquide. L'accent

sera mis sur l'aspect pratique au spectromètre et devant des stations de travail. Cet atelier pratique est sous la responsabilité de Cédric Laguri et des intervenants des laboratoires de RMN de Grenoble, Strasbourg et Paris assureront la formation.

ATELIER PRATIQUE EMBO «SMALL ANGLE NEUTRON & X-RAY SCATTERING FROM PROTEINS IN SOLUTION», DU 18 AU 22 MAI 2015, ILL

Ce cours portera sur l'utilisation de la diffusion aux petits angles (SAS) à la fois des neutrons et des rayons X pour la détermination des structures des macromolécules biologiques. L'objectif est de permettre aux participants de maximiser l'information obtenue par la technique de SAS dans leurs futures expériences.

Cet atelier pratique est organisé par les partenaires du PSB (ESRF, ILL, EMBL, UVHCI et IBS). Frank Gabel (IBS/ELMA) fait partie du comité d'organisation et donne également des cours lors de cet atelier. Retrouver toutes les informations sur <http://events.embo.org/15-saxs/>.

ATELIER INSTRUCT FRISBI PSB SUR LES INTERACTIONS MOLÉCULAIRES : COMPLÉMENTARITÉ DES MÉTHODES BIOPHYSIQUES, DU 1ER AU 05 JUIN 2015, EPN CAMPUS

L'objectif de cet atelier est de fournir les bases théoriques, pratiques et analytiques des différentes méthodes modernes pour détecter et quantifier les interactions moléculaires en biology (SEC-MALLS, UAC, SPR, ITC...).

Le workshop est organisé autour de courtes introductions aux concepts et théories biophysiques, de travaux pratiques pour la mise en place des expériences utilisant les instruments les plus récents et d'une introduction aux méthodes d'analyse des données

Pour plus d'informations et inscriptions, consulter <http://workshops.ibs.fr/molecular-interactions/applications>

JOURNÉE SCIENTIFIQUE DE L'IBS, 19 JUIN 2015, CENTRE TECHNIQUE DU PAPIER, DOMAINE UNIVERSITAIRE

Les travaux de recherche menés à l'IBS seront illustrés à travers des conférences données par des représentants de la moitié des groupes (l'autre partie présentera en 2016). Tous les étudiants et post-doctorants présenteront des posters, ainsi qu'un flash (pour tous les doctorants et post-doctorants de 2e année). Les détails de la journée seront progressivement mis à disposition sur intranet, à la rubrique «Communication/Manifestations scientifiques».

ECOLE D'ÉTÉ INTERNATIONALE AFM BIOMED 2015, DU 24 AU 28 AOUT 2015, IBS

Cette école d'été présente une introduction à la microscopie à force atomique dans le domaine des sciences de la vie et de la médecine. Elle s'adresse aux thésards, post-docs, chercheurs, et techniciens et ingénieurs de plateformes. Des cours théoriques sont présentés le matin et des travaux pratiques sont prévus tous les après-midi souvent encadrés par les intervenants des cours. Il y a une vingtaine de places disponibles (limité par le nombre de microscopes disponibles pendant cette école). Cette école est organisée en collaboration avec l'Institut Pasteur de Lille et l'ESRF. En savoir plus: <http://www.afmbiomed.org/grenoble-2015.aspx>. Contact : jean-luc.pellequer@ibs.fr.