

EDITO

Les activités de recherche de l'IBS ont été regroupées autour de trois nouveaux programmes. Je remercie les anciens responsables des axes pour leur travail stimulant et me réjouis de travailler avec les responsables récemment nommés: Thierry Vernet pour le programme «Maladies infectieuses et médecine moléculaire», Eva Pebay-Peyroula pour le programme «Signalisation et transport membranaire» et Dominique Bourgeois pour le programme «Frontières en Biophysique et Chimie pour la Biologie Structurale».

Les rôles des responsables de programme sont (i) d'organiser les agendas des CDR et CDE avec la direction, (ii) de programmer des invitations de conférenciers extérieurs pour les séminaires IBS du vendredi, et (iii) de promouvoir des séminaires et discussions, internes à chaque programme et également inter-programmes, pour renforcer les collaborations dans l'institut. Il existe déjà de nombreuses possibilités de collaborer au sein de l'IBS et j'encourage chacun à saisir les opportunités.

Winfried Weissenhorn

SOMMAIRE

ZOOMS SUR

Le virus de la rougeole.....p. 2

la résistance des entérobactéries au stress acide.....p. 2

L'arn-polymerase du virus de la grippe A.....p. 2

PUBLICATIONS.....p. 3

RENCONTRES SCIENTIFIQUES.....p. 4

NOUVEAUTES, VALORISATION, SECURITE, EN SAVOIR PLUS.....p. 5



Observation en coupe d'un mutant de *Streptococcus pneumoniae* par microscopie électronique en transmission - © IBS/B.Gallet

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 :

W. Weissenhorn

Comité de rédaction :

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

Correspondants

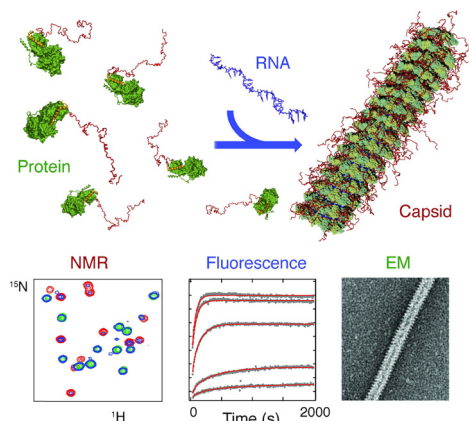
P. Amarra, M. Blackledge, D. Bourgeois, A. Dessen, J.L. Ferrer, F. Fieschi, B. Franzetti, D. Housset, M. Jamin, H. Lortat-Jacob, E. Neumann, H. Nury, C. Petosa, P. Poignard, J.P. Simorre, T. Vernet, M. Vivaudou

pour la rédaction des rubriques :

Contributeurs aux zooms de ce numéro : M. Blackledge, T. Crepin, I. Gutsche

ZOOM SUR...

UN DES SECRETS DU VIRUS DE LA ROUGEOLE



Lors de l'infection d'un hôte, les paramyxovirus, dont le virus de la rougeole fait partie, protègent leurs génomes dans une nucléocapside, une très longue structure hélicoïdale faite de milliers de nucléoprotéines associées à leur ARN génomique. Jusqu'à maintenant, le processus d'assemblage de ces nucléocapsides n'avait pas pu être élucidé, faute de pouvoir suivre le processus d'assemblage *in vitro*. Dans cette étude, les chercheurs des groupes FDP, VRM et MEM de l'IBS décrivent, pour la première fois, de quelle manière se déroule *in vitro* cet assemblage des nucléocapsides du virus de la rougeole.

Pour réaliser ce travail, les chercheurs ont combiné la Résonance Magnétique Nucléaire, la spectroscopie de fluorescence et la microscopie électronique pour détailler l'assemblage et suivre sa cinétique. La combinaison de toutes ces méthodes a permis de montrer que le processus d'assemblage des nucléocapsides sur l'ARN dépend de la séquence d'ARN présente.

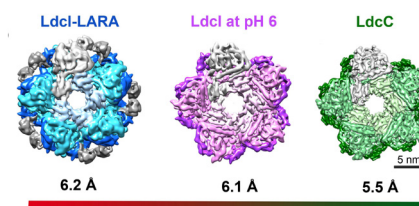
Ce nouvel outil de recherche ne permet pas seulement d'étudier la base moléculaire de l'interaction entre la nucléoprotéine et l'ARN, mais ouvre la voie à de nombreuses applications. La possibilité de suivre l'efficacité d'encapsulation du génome sous différentes

conditions permettrait de développer des inhibiteurs de réplication virale, et laisse entrevoir des applications multiples dans le domaine des nano-biotechnologies ou dans le développement de vaccins.

Self-assembly of measles virus nucleocapsid-like particles: Kinetics and RNA sequence dependence. Sigrid Milles, Malene Ringkjøbing Jensen, Guillaume Communie, Damien Maurin, Guy Schoehn, Rob W.H. Ruigrok and Martin Blackledge. *Angewandte Chemie*, 30 May 2016, doi: 10.1002/anie.201602619.

UN NOUVEAU PAS DANS L'ÉTUDE STRUCTURALE DE LA RÉSISTANCE DES ENTÉROBACTÉRIES AU STRESS ACIDE

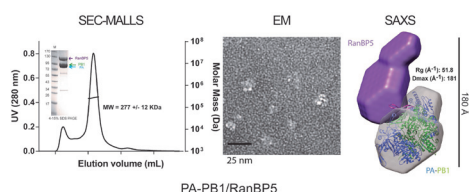
Les entérobactéries telles que *Escherichia coli* ou *Salmonella* doivent activer leur systèmes de défense contre le pH acide lors de la traversée de l'estomac de l'hôte, et la pathogénicité de ces bactéries est directement liée à leur capacité à résister à bas pH. Une des enzymes responsables de la résistance au stress acide est la décarboxylase à lysine LdcI. Nous avons récemment montré que deux copies de cette protéine décimérique s'associent avec cinq hexamères de la AAA+ ATPase RavA pour former une spectaculaire cage macromoléculaire de la taille du ribosome (Malet et al. 2014, eLife). En combinant la cryo-microscopie électronique et la cristallographie aux rayons X nous avons maintenant étudié les changements conformationnels de la LdcI lors de son activation par le pH et sa liaison à la RavA. De plus, nous avons enfin pu lever le mystère sur les raisons pour lesquelles la deuxième décarboxylase à lysine de *E. coli*, la LdcC, très fortement homologue à la LdcI, n'interagit pas avec la RavA. Une analyse phylogénétique couplée à cette étude structurale, révèle que certaines enterobactéries exercent une pression évolutive sur la décarboxylase à lysine vers la formation de la cage, ce qui suggère une fonction importante de cette dernière dans des conditions particulières de stress cellulaire que nous sommes actuellement en train d'élucider. Ce travail a été réalisé en collaboration avec l'Université de Toronto pour la production de protéine et l'Institut de Biosciences et Biotechnologies de Grenoble.



Structural insights into the *Escherichia coli* lysine decarboxylases and molecular determinants of interaction with the AAA+ ATPase RavA. Kandiah E, Carriel D, Perard J, Malet H, Bacia M, Liu K, Chan SW, Houry WA, Ollagnier de Choudens S, Elsen S, Gutsche I. *Scientific Reports*;6:24601.

L'ARN-POLYMÉRASE DU VIRUS DE LA GRIPPE A

L'ARN-polymérase du virus de la grippe fait l'objet d'études intensives depuis plus de 30 ans. Il aura fallu attendre l'expression de polyprotéines recombinantes en cellules d'insecte pour obtenir des formes solubles et cristallisables de l'enzyme entière d'un virus de type A infectant les chauves-souris, et de celles de type B et C. A l'heure actuelle, aucune structure de l'ARN-polymérase entière de souche de grippe A aviaire (H5N1) ou humaine (H3N2) n'a été résolue. Cet article présente tout d'abord la méthode d'expression par polyprotéine qui a permis de produire et d'assembler de façon stœchiométrique PA, PB1 et PB2, les trois sous-unités formant l'ARN-polymérase virale. Il détaille ensuite le rôle délétère de PB2 dans l'expression globale du complexe des souches H5N1 ou H3N2, mis en évidence par western blot et par le suivi des rapporteurs d'expression (CFP) et de prolifération virale (YFP). L'obtention de constructions tronquées de l'ARN-polymérase et/ou en complexe avec la Karyophérine- β humaine RanBP5 est ensuite détaillée (analyses biochimiques, SEC-MALLS et microscopie électronique en coloration négative). Des mesures d'affinité (anisotropie de fluorescence et rétention sur filtre) ont permis de mesurer des affinités extrêmement fortes de l'enzyme envers son promoteur 5' ARNv, avec un KD de l'ordre du picomolaire. Le rôle primordial de PB2 dans la liaison du promoteur 3' ARNv est aussi démontré. Le résultat novateur présenté dans cet article est la reconstitution du complexe d'import PA-PB1-RanBP5, son analyse biochimique et sa modélisation par SAXS. Ces analyses permettent d'enrichir les modèles actuels d'assemblage du complexe polymérasique qui pourrait aboutir à de nouvelles cibles thérapeutiques. Ce travail est le produit d'une collaboration entre des groupes de l'IBS (groupes Ruigrok et Schoehn) et de l'EMBL (groupes Berger et Cusack) avec le soutien de Hoffman La-Roche, de l'ANR, de l'UE et de GRAL.



Structural characterization of recombinant IAV polymerase reveals a stable complex between viral PA-PB1 heterodimer and host RanBP5. Christopher Swale, Alexandre Monod, Laura Tengo, Alice Labaronne, Frédéric Garzoni, Jean-Marie Bourhis, Stephen Cusack, Guy Schoehn, Imre Berger, Rob WH Ruigrok, and Thibaut Crépin. *Scientific Report*, 6, 24727.

PUBLICATIONS

A SAM oligomerization domain shapes the genomic binding landscape of the LEAFY transcription factor. Sayou C, Nanao MH, Jamin M, Posé D, Thévenon E, Grégoire L, Tichtinsky G, Denay G, Ott F, Peirats Llobet M, Schmid M, Dumas R, Parcy F. *Nature Communication*;7:11222.

Carbon-sulfur bond-forming reaction catalysed by the radical SAM enzyme HydE. Rohac R, Amara P, Benjdia A, Martin L, Ruffié P, Favier A, Berteau O, Mouesca JM, Fontecilla-Camps JC, Nicolet Y. *Nature Chemistry*;8(5):491-500.

CXCL13 is a plasma biomarker of germinal center activity. Havenar-Daughton C, Lindqvist M, Heit A, Wu JE, Reiss SM, Kendrick K, Bélanger S, Kasturi SP, Landais E, Akondy RS, McGuire HM, Bothwell M, Vagefi PA, Scully E; IAVI Protocol C Principal Investigators, Tomaras GD, Davis MM, Poignard P, Ahmed R, Walker BD, Pulendran B, McElrath MJ, Kaufmann DE, Crotty S. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*;113, 2702-2707.

Crystallographic study of peptidoglycan biosynthesis enzyme MurD: domain movement revisited. Sink R, Kotnik M, Zega A, Barreateau H, Gobec S, Blanot D, Dessen A, Contreras-Martel C. *PLoS One* 11, e0152075.

Domain organization of vaccinia virus helicase-primase D5. Hutin, S., Ling, W. L., Round, A., Effantin, G., Reich, S., Iseni, F., Tarbouriech, N., Schoehn, G. & Burmeister, W. P. *Journal of Virology*; 90, 4604-13.

Dynamic Competing Histone H4 K5K8 Acetylation and Butyrylation Are Hallmarks of Highly Active Gene Promoters. Goudarzi A, Zhang D, Huang H, Barral S, Kwon OK, Qi S, Tang Z, Buchou T, Vitte AL, He T, Cheng Z, Montellier E, Gaucher J, Curtet S, Debernardi A, Charbonnier G, Puthier D, Petosa C, Panne D, Rousseaux S, Roeder RG, Zhao Y, Khochbin S. *Molecular Cell*; 62:169-80.

Early Antibody Lineage Diversification and Independent Limb Maturation Lead to Broad HIV-1 Neutralization Targeting the Env High-Mannose Patch. MacLeod DT, Choi NM, Briney B, Garces F, Ver LS, Landais E, Murrell B, Wrin T, Kilembe W, Liang CH, Ramos A, Bian CB, Wickramasinghe L, Kong L, Eren K, Wu CY, Wong CH, The IAVI Protocol C Investigators & The IAVI African HIV Research Network, Kosakovsky Pond SL, Wilson IA, Burton DR, Poignard P. *Immunity*; 44(5):1215-26.

Enhancement of Ebola virus infection via ficolin-1 interaction with the mucin domain of GP glycoprotein. Favier AL, Gout E, Reynard O, Ferraris O, Kleman JP, Volchkov V, Peyrefitte C, Thielens NM. *Journal of Virology*; 90 (11) 5256-5269.

Ensemble Structure of the Highly Flexible Complex Formed between Vesicular Stomatitis Virus Unassembled Nucleoprotein and its Phosphoprotein Chaperone. Yabukarksi F, Leyrat C, Martinez N, Communie G, Ivanov I, Ribeiro EA Jr, Buisson M, Gerard FC, Bourhis JM, Jensen MR, Bernadó P, Blackledge M, Jamin M. *Journal of Molecular Biology* 2016 Apr 20. pii: S0022-2836(16)30069-9

Identification of Dynamic Modes in an Intrinsically Disordered Protein using Temperature-dependent NMR Relaxation. Abyzov A, Salvi N, Schneider R, Maurin D, Ruigrok RW, Jensen MR, Blackledge M. *Journal of the American Chemical Society*;138(19):6240-51.

Mechanisms of escape from the PGT128 family of anti-HIV broadly neutralizing antibodies. Krumm SA, Mohammed H, Le KM, Crispin M, Wrin T, Poignard P, Burton DR, Doores KJ. *Retrovirology*; 13, 8.

Photoelectrochemical H₂ Evolution with a Hydrogenase Immobilized on a TiO₂-Protected Silicon Electrode. Lee CY, Park HS, Fontecilla-Camps JC, Reisner E. *Angewandte Chemie-International Edition England*;55(20):5971-4

Proteinase 3 is a phosphatidylserine binding protein which affects the production and function of microvesicles. Martin KR, Kantari-Mimoun C, Yin M, Pederzoli-Ribeil M, Angelot-Delettre F, Ceroi A, Grauffel C, Benhamou M, Reuter N, Saas P, Frachet P, Boulanger CM, Witko-Sarsat V. *Journal of Biological Chemistry*;291(20):10476-89.

Safety, Stability and Pharmacokinetic Properties of Factor Va, a Novel Engineered Coagulation Factor V for Treatment of Severe Bleeding. Gale AJ, Bhat V, Pellequer JL, Griffin JH, Mosnier LO and Von Drygalski A. *Pharmaceutical Research*; 33(6):1517-26

Structural and Functional Investigation of the Ag+/Cu+ Binding Domains of the Periplasmic Adaptor Protein SilB from Cupriavidus metallidurans CH34. Urbina P, Bersch B, De Angelis F, Derfoufi KM, Prévost M, Goormaghtigh E, Vandenbussche G. *Biochemistry*;55(20):2883-97.

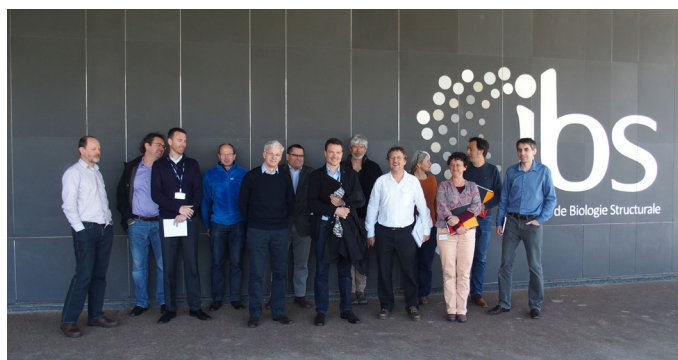
Structural basis of lipid targeting and destruction by the type V secretion system of Pseudomonas aeruginosa. da Mata Madeira, PV, Zouhir S, Basso P, Neves D, Laubier A, Salacha R, Blevés S, Faudry E, Contreras-Martel C, Dessen A. *Journal of Molecular Biology*; 428, 1790-1803.

Structural insights into protein-protein interactions involved in bacterial cell wall biogenesis. Laddomada F, Miyachiro MM, Dessen. *Antibiotics* 5, E14.

The Role of Dynamics and Allostery in the Inhibition of the eIF4E/eIF4G Translation Initiation Factor Complex. Salvi N, Papadopoulos E, Blackledge M, Wagner G. *Angewandte Chemie Int Ed Engl.* 2016 May 10. doi: 10.1002/anie.201603254.

VALORISATION
Visite Biomérieux

L'IBS a accueilli le 27 avril Dirk Heckel, VP R&D « Molecular Diagnostics Europe » de la société Biomérieux accompagné d'un groupe de quatre scientifiques. La société réalise à Grenoble des activités de R&D et de production d'outils et de réactifs pour des tests diagnostics en microbiologie.



RENCONTRES SCIENTIFIQUES
◇ Bilan des récents événement scientifiques
COURS EMBO SUR LES COMPLEXES MACROMOLECULAIRES, 21-27 MAI, GRENOBLE

Au cours de la dernière semaine de mai, l'IBS et ses partenaires du PSB ont accueilli vingt jeunes chercheurs originaires de toute l'Europe, des États-Unis, de l'Asie et de l'Amérique du Sud. Ces 13 thésards et 7 post-doctorants ont participé à l'atelier EMBO portant sur la caractérisation structurale des complexes macromoléculaires, un événement organisé sur le campus de l'EPN tous les deux ans depuis 2002. Plus de 30 intervenants locaux et externes, dont 7 chercheurs de l'IBS, ont donné des conférences et organisé des travaux pratiques. Lors de leur séjour, les participants à l'atelier EMBO ont appris à purifier des complexes macromoléculaires et à analyser des interactions intermoléculaires par plusieurs techniques biochimiques et biophysiques. Ils ont également appris à caractériser la structure



de ces complexes par différentes approches : cristallographie aux rayons X, diffusion aux petits angles, microscopie électronique, RMN et spectrométrie de masse.

CONGRÈS DU GDR ARCHÉES, 25-27 MAI 2016, IBS

Entre le 25 et le 27 mai, se sont tenues à l'IBS les troisièmes rencontres du GDR Archaea de l'INSB. Ces rencontres ont réunies une soixantaine de personnes issues d'une vingtaine d'équipes de recherche. 24 présentations orales et une vingtaine de posters recouvrant des thématiques comme l'adaptation des extrémophiles, l'évolution, la microbiologie et la biodiversité des archées ainsi que les processus cellulaires fondamentaux. Trois conférences plénières ont été données par des invités. Les interventions étant ouvertes à tous, plusieurs présentations ont été suivies par des auditeurs externes démontrant un intérêt croissant à l'étude des archées comme organismes modèles pour comprendre des processus universels ou comme source de métabolismes et processus cellulaires uniques. Ainsi, des avancées récentes ont souligné la place centrale que les archées occupent dans l'évolution du vivant et l'émergence des eucaryotes. Des travaux sur la diversité et le métabolisme des archées révèlent leur importance dans tous les écosystèmes avec en particulier un rôle clé dans le cycle de l'azote. Dans le domaine de l'extrémophilie, une série de travaux interdisciplinaires associant la bioinformatique la biochimie et la biophysique ont permis conforter l'idée que des modifications de la dynamique des protéines sont au cœur des processus d'adaptation à l'environnement. Enfin, le congrès a été particulièrement riche dans le domaine des 3R (réplication, réparation et recombinaison de l'ADN). Ainsi, de nouveaux processus ubiquitaires basées sur l'étude des systèmes archéens ont été dévoilés avec en particulier la caractérisation structurale d'une nouvelle



polymerase. Le congrès a également mis en avant l'émergence d'outils génétiques et d'imagerie cellulaire chez les archées. Au

cours de ces rencontres, une conférence de vulgarisation sur les Archaea à destination du grand public a été donnée par le Pr P. Forterre. Celle-ci a été filmé et sera mise en ligne prochainement.

◇ Annonce des événements à venir
RMN À HAUTS CHAMPS ET PROBLÉMATIQUES INDUSTRIELLES, 16 JUIN, ECOLE NORMALE SUPÉRIEURE DE LYON

Le but de cet événement est de proposer un forum de discussion de haut niveau entre physiciens, chimistes et biologistes qui travaillent dans l'industrie et dans les laboratoires académiques. Cet échange permettra d'informer les chercheurs universitaires sur les défis actuels de l'utilisation de la RMN dans un contexte industriel, et en parallèle de sensibiliser les chercheurs industriels sur les derniers développements instrumentaux à très haut champ magnétique et sur les techniques disponibles dans une poignée de plateformes RMN.

En plus de présentations par des acteurs académiques régionaux sur les derniers développements en RMN à hauts champs, nous donnerons la parole à des industriels pour présenter l'apport de la RMN dans leur recherche et/ou leurs problématiques pouvant être résolues par RMN.

Plusieurs thèmes seront abordés lors de cette journée : Science du vivant et santé; Métabolisme, diagnostique, prévention et toxicologie; Catalyse, développement durable et énergie; Matériaux polymères; Produits et instrumentations scientifiques.

Cette journée est co-organisée par les équipes RMN de l'Institut des Sciences Analytiques (ISA) et de l'Institut de Biologie des Protéines (IBCP) de Lyon, de l'Institut de Nanosciences et Cryogénie (INAC) et de l'Institut de Biologie Structurale (IBS) de Grenoble, sous l'égide de la fédération nationale IR-RMN-THC.

L'inscription à cette journée est gratuite. Vous trouverez tous les détails sur http://www.ir-rmn.fr/Journee_Industriels. Le nombre de places étant limité, pensez à vous inscrire dès que possible.

JOURNÉE SCIENTIFIQUE DE L'IBS, 16 SEPTEMBRE 2016, CENTRE TECHNIQUE DU PAPIER, DOMAINE UNIVERSITAIRE

Les travaux des groupes qui n'avaient pas parlé l'an dernier seront présentés, ainsi que l'avancée des études menées par nos étudiants en thèse et par nos post-doctorants. Les détails de cette journée seront progressivement mis à disposition sur intranet, à la rubrique «Communication/Manifestations scientifiques». N'oubliez pas de vous inscrire avant le 17 juin !

NOUVEAUTÉS
«Apprendre les acides aminés de façon ludique avec son Smart Phone».

Ce projet porté par Eve de Rosny et Véronique Rossi a été sélectionné dans le cadre de l'appel à projets 2016 de l'Université Numérique en Région Rhône-Alpes (UNRRA) pour un financement de 16 000 €. Un premier prototype est en cours de réalisation par des étudiants du DUT Métiers du Multimédia et de l'Internet de l'université Grenoble Alpes.

Le GDR GAG s'affiche

Le site du GDR3939 (Structure, fonction et régulation des Glycosaminoglycans) est désormais ouvert : <https://gagosciences.ibs.fr/>.