

SOMMAIRE

ZOOMS SUR

un canal protéique entre la cellule mère et la prespore p. 2

les heparanes sulfates, contrôleurs des ligands de cxcr4 p. 2

mScarlet, une protéine rouge à la fluorescence inégalee p. 2

PUBLICATIONS

..... p. 3

RENCONTRES SCIENTIFIQUES

..... p. 3

SOUTENANCES

..... p. 4



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

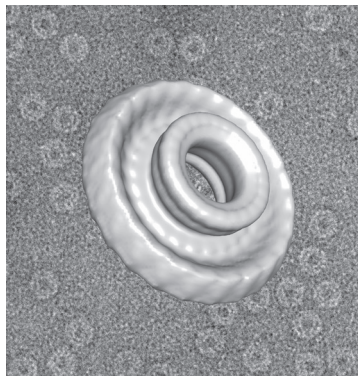
Comité de rédaction :

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

**Correspondants
pour la rédaction des rubriques :**

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

Contributeurs aux zooms de ce numéro : H. Lortat-Jacob, C. Morlot, A. Royant

ZOOM SUR...
UN CANAL PROTÉIQUE CONNECTE LA CELLULE MÈRE À LA PRÉSPORE AU COURS DE LA SPORULATION


La sporulation bactérienne, provoquée par une carence nutritionnelle, constitue un modèle simple de différenciation morphologique qui mène à la formation d'une spore résistante à des conditions environnementales extrêmes (température, déshydratation, irradiation, ...). L'une des étapes clés du cycle de développement de la spore repose sur l'assemblage d'un complexe hétéro-multimérique qui comprend au moins 9 protéines différentes (SpoIIIAA-AH et SpoIIQ) et traverse les membranes de la cellule mère et de la préspore. La fonction de ce complexe reste énigmatique mais la ressemblance des protéines SpoIIIA avec certains composants des flagelles et des systèmes de sécrétion de type II, III ou IV, suggère un rôle de sécrétion ou de transport passif d'un composant de nature inconnue de la cellule mère vers la préspore. Les groupes Pneumocoque, Microscopie Electronique et Méthodes, et RMN biomoléculaire à l'IBS, en collaboration avec le groupe de David Rudner de la Harvard Medical School à Boston, ont généré des données complémentaires en biologie structurale et cellulaires qui montrent que SpoIIAG forme un anneau oligomérique nécessaire au développement de la préspore. La reconstruction de la structure tridimensionnelle de cet anneau par cryo-EM a révélé une

architecture de type «tasse-et-soucoupe» avec un pore central de 6 nm. Cette étude apporte la première évidence directe qu'un conduit protéique connecte la cellule mère à la préspore au cours de la sporulation.

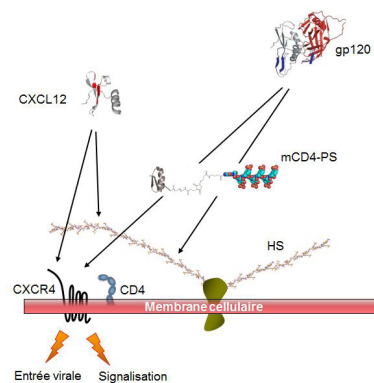
A ring-shaped conduit connects the mother cell and forespore during sporulation in *Bacillus subtilis*. Rodrigues CD, Henry X, Neumann E, Kurauskas V, Bellard L, Fichou Y, Schanda P, Schoehn G, Rudner DZ, Morlot C. *Proc Natl Acad Sci U S A* 113(41):11585-11590.

LES HÉPARANES SULFATES CONTRÔLENT LES LIGANDS DE CXCR4

CXCR4 est un récepteur de type GPCR qui a 2 ligands : CXCL12, une chimiokine qui induit la migration cellulaire et gp120, la glycoprotéine d'enveloppe du VIH, impliquée dans le mécanisme d'entrée du virus. Ces 2 protéines ont aussi en commun de se fixer sur les polysaccharides de type héparanes sulfates (HS). Pour CXCL12, cette interaction permet de stabiliser des gradients de concentration le long desquels les cellules peuvent migrer de manière directionnelle. Pour gp120, les HS constituent un «récepteur d'attachement» permettant un ancrage du pathogène à la surface des cibles cellulaires. Deux études récentes apportent un nouvel éclairage sur ces interactions.

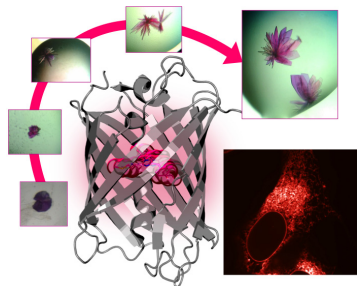
CXCL12, existe sous plusieurs isoformes fixant différemment les HS. Les travaux que nous avons conduits, après avoir reconstitué CXCR4 sur un biocapteur, indiquent que CXCL12 γ forme avec CXCR4 un complexe de très haute affinité mais, curieusement, inactif. En présence d'HS cette isoforme induit une migration cellulaire identique à celle de CXCL12 γ qui forme avec CXCR4 un complexe de plus faible affinité, et indépendant des HS. Ces travaux démontrent que le rôle des HS dépasse largement le maintien d'un gradient, et qu'ils contrôlent la réponse cellulaire en intervenant directement sur l'organisation des complexes chimiokines-récepteurs (1).

La caractérisation du complexe gp120-HS a permis d'identifier une région de la protéine reconnue à la fois par les HS et CXCR4. Située dans un domaine cryptique de gp120, cette région devient exposée en présence de CD4. Sur cette base, une molécule comprenant un mime de CD4, lié à un sulfopeptide mimant les HS a été développée. Ce composé cible le site de liaison à CD4 de gp120, induit le changement de conformation qui expose le domaine de liaison à CXCR4 qui devient alors accessible pour être bloqué par le sulfopeptide. Dans une étude préclinique, réalisée en utilisant un modèle d'infection par voie vaginale chez le macaque, cette molécule qui inhibe l'interaction de gp120 avec CD4, HS et CXCR4 a protégé 83% des animaux traités (2).



(1) CD4-mimetic sulfopeptide conjugates display sub-nanomolar anti-HIV-1 activity and protect macaques against a SHIV162P3 vaginal challenge. Arien K.K., Baleux F., Desjardins D., Porrot F., Coic Y.-M., Michiels J., Bouchemal K., Bonnaffé D., Bruel T., Schwartz O., Le Grand R., Vanham G., Dereuddre-Bosquet N. and Lortat-Jacob H. *Scientific Reports* 6, 34829

(2) Heparan Sulfate differently regulates CXCL12 α and CXCL12 γ mediated chemotaxis through differential presentation to CXCR4. Connell B.J., Sadir R., Baleux F., Laguri C., Kleman J.-P., Luo L., Arenzana-Seisdedos F. and Lortat-Jacob H. *Science Signaling* 9, ra107

MSCARLET, ENFIN UNE PROTÉINE FLUORESCENTE ROUGE VRAIMENT BRILLANTE


Depuis les débuts de l'utilisation de la GFP comme marqueur de colocalisation de protéine en 1994, l'ensemble du spectre de la lumière visible a été progressivement couvert de protéines à l'efficacité de fluorescence optimisée, du bleu à l'orange, en passant par le cyan, le vert et le jaune. Cependant, la gamme spectrale du rouge (au-dessus de 570 nm) manquait jusqu'à présent de protéines possédant une efficacité de fluorescence dépassant 50%. Des chercheurs de l'IBS et de l'ESRF se sont associés à une équipe de l'Université d'Amsterdam pour mettre au point et caractériser une protéine fluorescente rouge, mScarlet, aux propriétés remarquables d'efficacité de fluorescence (70%) et de temps de vie de fluorescence (3,9 ns). Elle a été élaborée par une méthode originale consistant à créer un gène synthétique en comparant l'ensemble des séquences de protéines fluorescentes rouges naturelles et en sélectionnant les acides aminés les plus conservés. Cette protéine artificielle, déjà naturellement

fluorescente, a été améliorée par mutagenèse aléatoire, et optimisée par mesure à haut débit de temps de vie de fluorescence. La résolution de la structure cristallographique des meilleurs mutants a permis d'identifier mScarlet et de comprendre l'origine moléculaire de sa haute efficacité de fluorescence : un chromophore maintenu plan de manière rigide par un ensemble d'interactions de type doublet libre-système conjugué, van der Waals, électrostatique et liaison hydrogène.

mScarlet: a bright monomeric red fluorescent protein for cellular imaging. Daphne S. Bindels, Lindsay Haarbosch, Laura van Weeren, Marten Postma, Katrin E. Wiese, Marieke Mastop, Sylvain Aumonier, Guillaume Gotthard, Antoine Royant, Mark A. Hink and Theodor W.J. Gadella Jr. *Nature Methods*, doi: 10.1038/nmeth.4074

PUBLICATIONS

A cinnamon-derived procyanidin compound displays anti-HIV-1 activity by blocking heparan sulfate-, CD4- and coreceptor- binding sites on gp120 and Tim-3 and PD-1 upregulation. Connell B.J., Chang SY., Prakash E., Yousfi R., Mohan V., Posch W., Wilflingseder D., Moog C., Kodama E.I., Clayette P. and Lortat-Jacob H. *PLoS One* 11, e0165386

Association between the Presence of Autoantibodies Targeting Ficolin-3 and Active Nephritis in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. Plawecki M, Lheritier E, Clavarino G, Jourde-Chiche N, Ouili S, Paul S, Gout E, Sarrot-Reynaud F, Bardin N, Boëlle P-Y, Chiche L, Bouillet L, Thielens NM, Cesbron J-Y, Dumestre-Pérard C. *PLoS ONE*, 11(9): e0160879.

Binding Mechanisms of Intrinsically Disordered Proteins: Theory, simulation, and Experiment. Mollica L, Bessa LM, Hanouille X, Jensen MR, Blackledge M, Schneider R. *Frontiers in Molecular Biosciences*; 3:52.

Combined small angle X-ray solution scattering with atomic force microscopy for characterizing radiation damage on biological macromolecules. Costa L, Andriatis A, Brennich M, Teulon JM, Chen SW, Pellequer JL, Round A. *BMC Structural Biology*;16(1):18.

Cytoplasmic proliferating cell nuclear antigen connects glycolysis and cell survival in acute myeloid leukemia. Ohayon D, De Chiara A, Chapuis N, Candalh C, Mocek J, Ribeil JA, Haddaoui L, Ifrah N, Hermine O, Bouillaud F, Frachet P, Bouscary D, Witko-Sarsat V. *Scientific Reports*;6:35561.

Direct and co-catalytic oxidative aromatization of 1,4-dihydropyridines and related substrates using gold nanoparticles supported on carbon nanotubes. Prakash, P., Gravel, E., Li, H., Miserque, F., Habert, A., den Hertog, M., Ling, W.L., Nambhothiri, I.N.N., Doris, E. *Catalysis Science and Technology* 6, 6476-6479

Editorial: State-of-the-Art research on C1q and the classical complement pathway. Kishore U, Thielens NM, Gaboriaud C. *Frontiers in Immunology*, 7, 398.

Enterococcus hirae LcpA (Psr), a new peptidoglycan-binding protein localized at the division site. Maréchal M, Amoroso A, Morlot C, Vernet T, Coyette J, Joris B. *BMC Microbiology*;16(1):239.

Gas-sensitive biological crystals processed in pressurized oxygen and krypton atmospheres: deciphering gas channels in proteins using a novel 'soak-and-freeze' methodology. Lafumat B, Mueller-Dieckmann C, Leonard G, Colloc'h N, Prangé T, Giraud T, Dobias F, Royant A, van der Linden P & Carpentier P. *Journal of Applied Crystallography*, 49, 1478-1487

Investigating the Role of Large-Scale Domain Dynamics in Protein-Protein Interactions. Delaforge E, Milles S, Huang JR, Bouvier D, Jensen MR, Sattler M, Hart DJ, Blackledge M. *Frontiers in Molecular Biosciences*;3:54.

Online ion-exchange chromatography for small-angle X-ray scattering. Hutin S1, Brennich M2, Maillot B2, Round A3. *Acta Crystallographica section D Struct Biol.*;72(Pt 10):1090-1099.

Periodontal Ehlers-Danlos syndrome is caused by mutations in C1R and C1S, which encode subcomponents C1r and C1s of complement. Kapferer-Seebacher I., Pepin M., Werner R., Aitman T., Nordgren A., Stoiber H., Thielens N., Gaboriaud C., Amberger A., Schossig A., Gruber R., Giunta C., Bamshad M., Björck E., Chen C., Chitayat D., Dorschner M., Schmitt-Egenolf M., Hale C.J., Hanna D., Hennies H.C., Heiss-Kisielewsky I., Lindstrand A., Lundberg P., Mitchell A.L., Nickerson D., Reinstein E., Rohrbach M., Romani N., Schmuth M., Silver R., Taylan F., Vandersteen A., Vandrovicova J., Weerakkody R., Yang M., Pope F.M., the Consortium "Molecular Basis of Periodontal EDS", Byers P.H., Zschocke. *The American Journal of Human Genetics*;99(5):1005-1014.

Resistance to β -Lactams in *Neisseria ssp* Due to Chromosomally Encoded Penicillin-Binding Proteins. Zapun A, Morlot C, Taha MK. *Antibiotics (Basel)*;5(4). pii: E35. Review.

Structural and dynamics studies of a truncated variant of CI repressor from bacteriophage TP901-1. Rasmussen KK, Frandsen KE, Boeri Erba E, Pedersen M, Varming AK, Hammer K, Kilstrup M, Thulstrup PW, Blackledge M, Jensen MR, Lo Leggio L. *Scientific Reports* 6:29574.

Structural Determinants of Improved Fluorescence in a Family of Bacteriophytochrome-Based Infrared Fluorescent Proteins: Insights from Continuum Electrostatic Calculations and Molecular Dynamics Simulations. Feliks M, Lafaye C, Shu X, Royant A & Field M. *Biochemistry*; 55(31):4263-74

Structural insights into the nucleotide-binding domains of the P1B-type ATPases HMA6 and HMA8 from *Arabidopsis thaliana*. H. Mayerhofer, E.Sautron, N. Rolland, C., P. Catty, D. Seigneurin-Berny, E. Pebay-Peyroula, S. Ravaud. *PlosOne*;11(11):e0165666.

RENCONTRES SCIENTIFIQUES

CONGRES AILM 2017 - DU 06 AU 09 MARS 2017, EPN CAMPUS

La deuxième édition du workshop Advanced Isotopic Labelling Methods for Integrated Structural Biology, sera organisé à l'IBS du 6 au 9 mars 2017. 24 conférenciers internationaux ont déjà accepté de participer et 20 lectures supplémentaires seront sélectionnées parmi les résumés soumis. Vous trouverez plus d'informations sur le programme, l'inscription et les dates limites sur le site web : www.aim2017.fr. Contact à l'IBS : jerome.boisbouvier@ibs.fr.

ECOLE D'HIVER AUX HOUCHES : « BIOLOGIE À DIFFÉRENTES ÉCHELLES : UNE INTERFACE ENTRE PHYSIQUE ET BIOLOGIE » - DU 13 AU 25 MARS 2017

Suite au succès de l'école d'été organisée en juillet 2014, nous organisons une école similaire en mars 2017 avec un programme raccourci et donc plus facilement abordable en cours de thèse. Lors de cette école, destinée aux doctorants et jeunes chercheurs, les participants apprendront comment résoudre un problème biologique en utilisant une méthode intégrative, allant de la résolution atomique au niveau d'un organisme entier. L'école vise également à montrer comment la physique peut contribuer à modéliser un processus biologique. Plusieurs sujets seront traités : morphogénèse des cellules et des tissus, rôle des membranes aux échelles mésoscopique et moléculaire, processus de remodelage et de transport, concepts et méthodes pour la physique appliquée à la biologie, état de l'art des approches expérimentales, liens entre biologie structurale et cellulaire. Les concepts et méthodes seront illustrés par deux champs de recherche, la morphogénèse des plantes, du gène aux fleurs et l'exocytose et la morphologie de la synapse

Cette école, co-organisée par R. Jahn, H. Nury, F. Parcy, E. Pebay-Peyroula, se déroulera près de Chamonix (aux Houches, France). Des subventions pourront être accordées. En savoir plus : <http://leshouches.strikingly.com/>

PRIX ET DISTINCTIONS

- Dimitrios Skoufias a été nommé membre du comité éditorial du journal *Scientific Reports*,

- Yann Fichou a obtenu le prix de thèse UGA de l'école doctorale de physique pour ses travaux intitulés 'Hydration water dynamics of the tau protein in its native and amyloid states' effectués dans le groupe DYNAMOP. Yann effectue actuellement un postdoctorat à UC Santa Barbara aux Etats-Unis,



- Sigrid Milles va recevoir en décembre le prix «Jeunes Chercheurs/euses» de la Société Française de Biophysique, pour ses travaux sur l'utilisation intégrative de la fluorescence à molécules uniques et de la RMN, pour étudier la structure des protéines comprenant des domaines intrinsèquement désordonnés. Ce prix récompense chaque année un(e) jeune biophysicien(ne), ayant récemment soutenu sa thèse, sur la base de son travail passé et récent, de l'importance du thème de recherche, la qualité et l'originalité des résultats obtenus ainsi que la clarté de la présentation.



SOUTENANCES

- **Vendredi 02 décembre 2016 à 14h, soutenance de thèse de Romain Berardozi** (IBS/DYNAMOP), intitulée «Étude photophysique des protéines fluorescentes photoconvertibles utilisées en microscopie super-résolution»,

- **Lundi 05 décembre 2016 à 14h, soutenance de thèse de Catarina Tomé** (IBS/IRPAS), intitulée «Understanding ribosome binding interactions and conformational changes of the EngA bacterial GTPase, a potential target for new antibiotics»,

- **Mardi 20 décembre 2016 à 14 h en salle Magat d'Orsay, soutenance de thèse de Damien Clavel** (IBS/GSY & Laboratoire de Chimie Physique d'Orsay), intitulée «Etudes structurales de la dynamique de protéines fluorescentes vertes et jaunes utilisées en imagerie de fluorescence»,

- **Mercredi 21 décembre 2016 à 14h, soutenance de thèse de Anastasya Shilova** (IBS/MEMBRANE & ESRF), intitulée «Development of serial protein crystallography with synchrotron radiation».