

SOMMAIRE

ZOOMS SCIENTIFIQUES.....p. 2

- Mise en évidence d'un état « fantôme » dans les protéines fluorescentes vertes
- Décryptage par spectroscopie d'échange RMN de la dynamique d'une protéine intrinsèquement désordonnée dans un complexe
- Communication bactérienne directe dans les biofilms flottants

PUBLICATIONS.....p. 3

CONTRATS OBTENUS PAR L'IBS.....p. 3

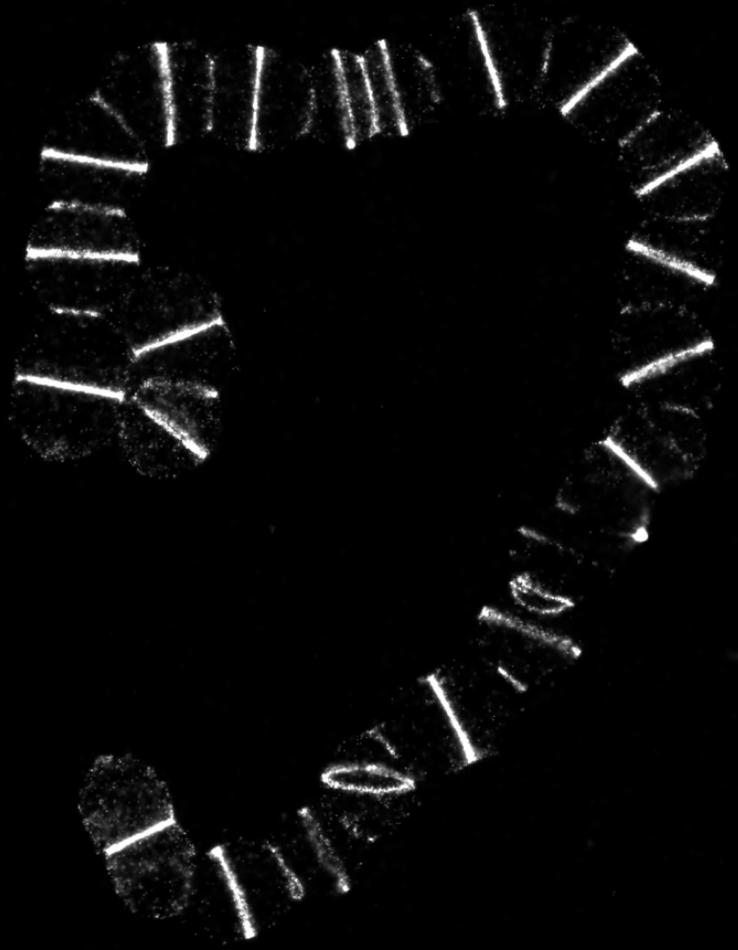
PARTENARIATS.....p. 3

NOMINATIONS.....p. 3

RENCONTRES SCIENTIFIQUES.....p. 4

PLATEFORMES.....p.4-5

ON EN PARLE.....p. 5



Synthèse du peptidoglycane visualisée en dSTORM © IBS/ C. Arthaud & C. Morlot

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

Correspondants pour la rédaction des rubriques :

P. Amarra, M. Blackledge, D. Bourgeois, A. Dessen, J.L. Ferrer, F. Fieschi, B. Franzetti, M. Jamin, H. Lortat-Jacob, C. Morlot, E. Neumann, H. Nury, C. Petosa, P. Pognard, J.P. Simorre, N. Thielens, M. Vivaudou

Contributeurs aux zooms de ce numéro :

M. Byrdin, J.P. Colletier, M. Jensen

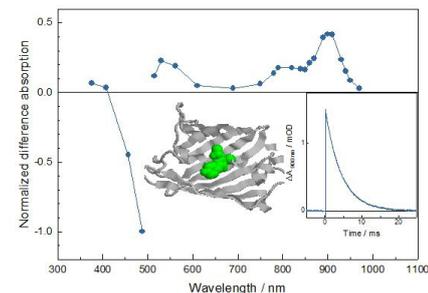
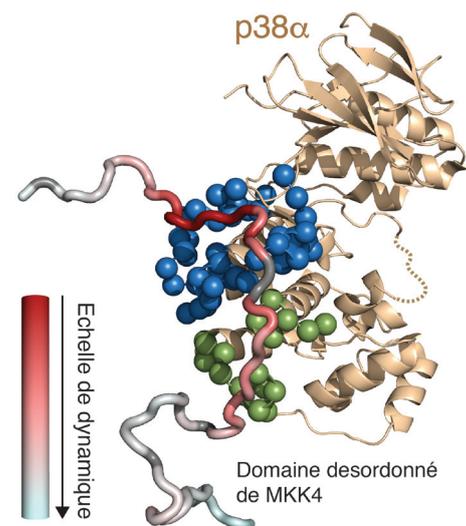
ZOOM SUR...
MISE EN ÉVIDENCE D'UN ÉTAT « FANTÔME » DANS LES PROTÉINES FLUORESCENTES VERTES

Les protéines fluorescentes vertes (GFPs) sont des protéines utilisées comme marqueurs (codées génétiquement) pour localiser, par microscopie optique, des protéines d'intérêt jusqu'à une résolution de la taille d'une molécule unique. Leur fluorophore est formé de trois acides aminés situés au centre d'un tonneau beta qui le protège de l'environnement. Il est doté d'un remarquable rendement d'absorption et de fluorescence, mais il est capricieux et fragile. Ainsi, il peut entrer dans des périodes dites « obscures » d'inactivité temporaire et après environ 10000 cycles d'excitation et d'émission, il s'éteint définitivement. A l'IBS, l'équipe Pixel a déjà résolu les structures de certains de ces états obscurs. Ils montrent tous des modifications chimiques plus ou moins sévères et potentiellement irréversibles. On soupçonnait l'existence d'un état en amont où ces modifications ne seraient pas encore irréversibles et dont la caractérisation permettrait d'améliorer le comportement des GFP. Mais cet état « fantôme » était mal connu : quel est son caractère chimique (triplet, radical, biradical ?), son rendement (pour cent, pour mille?), son temps de vie (nano-, micro-, millisecondes ?), sa réactivité (oxydative, réductive, les deux ?) et son spectre d'absorption (UV, VIS, IR ?).

Grace à une collaboration avec l'équipe de Klaus Brettel à l'I2BC (CEA Saclay), l'équipe Pixel du groupe DYNAMOP de l'IBS a soumis l'EGFP – protéine fluorescente modèle - à des études par absorption transitoire. Il s'agit d'une technique peu appliquée auparavant aux protéines fluorescentes, que les chercheurs ont poussée aux limites de sa résolution. Cela leur a permis de détecter la signature spectrale de l'état obscur « fantôme » et de le caractériser en répondant à tous les questions évoquées ci-dessus. Ces avancées permettent de mieux comprendre le fonctionnement photophysique des protéines fluorescentes et alimentent l'espoir de trouver des clés pour leur optimisation.

A Long-Lived Triplet State Is the Entrance Gateway to Oxidative Photochemistry in Green Fluorescent Proteins. Byrdin M, Duan C, Bourgeois D, Brettel K. *Journal of the American Chemical Society*;140(8):2897-2905

EGFP chromophore structure, triplet absorption spectrum and decay kinetics


DÉCRYPTAGE PAR SPECTROSCOPIE D'ÉCHANGE RMN DE LA DYNAMIQUE D'UNE PROTÉINE INTRINSÈQUEMENT DÉSORDONNÉE DANS UN COMPLEXE


Les protéines intrinsèquement désordonnées (PIDs) sont dépourvues de structure tridimensionnelle et sont fonctionnelles dans leur état désordonné. Leur grande flexibilité leur permet de s'adapter facilement à la surface de leurs partenaires et elles sont capables de se replier lors d'une interaction. Dans certains cas, elles peuvent même former un complexe « flou », dans lequel la PID n'adopte pas une seule conformation définie sur la surface du partenaire, mais continue à échantillonner plusieurs conformations dans un complexe hautement dynamique.

Le groupe FDP de l'IBS, en collaboration avec des chercheurs de l'IAB (Grenoble) et l'ENS (Paris), a réussi à obtenir une description à résolution atomique de la dynamique d'une PID sur la surface de son partenaire en utilisant des techniques d'échange par spectroscopie de résonance magnétique nucléaire. Ils ont appliqué cette approche au complexe de signalisation formé par la protéine kinase MAPK p38α et son domaine de régulation intrinsèquement désordonné MKK4. L'étude démontre que MKK4 utilise une combinaison de modes d'interaction pour se lier à p38α, conduisant à un complexe affichant des dynamiques significativement différentes entre les régions liées. Les résultats montrent comment les PIDs peuvent s'engager dans des interactions très spécifiques sans présenter une forte affinité de liaison.

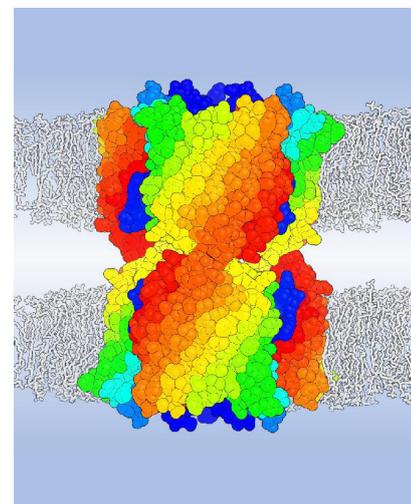
Deciphering the Dynamic Interaction Profile of an Intrinsically Disordered Protein by NMR Exchange Spectroscopy. Delaforge E, Kragelj J, Tengo L, Palencia A, Milles S, Bouvignies G, Salvi N, Blackledge M, Jensen MR. *Journal of the American Chemical Society*;140(3):1148-1158

COMMUNICATION BACTÉRIENNE DIRECTE DANS LES BIOFILMS FLOTTANTS

Dans leur environnement naturel, les bactéries sont généralement présentes sous la forme de communautés multicellulaires, appelées biofilms. Les biofilms sont caractérisés par la présence d'une matrice extracellulaire qui permet leur adhérence à différents types de surfaces (cellules, cathéters, etc.), confère une résistance plus élevée au traitement antibiotique et constitue un milieu dans lequel les bactéries peuvent communiquer par voie chimique, ou *quorum sensing*.

Des chercheurs du groupe DYNAMOP de l'IBS ont observé qu'une bactérie fréquemment isolée chez les grands brûlés et les personnes sous cathéterisation longue, *Providencia stuartii*, forme des communautés cellulaires flottantes au sein desquelles les cellules sont en contact direct, avant de sédimenter sous la forme de biofilms. Faisant l'hypothèse que ce contact implique forcément des protéines de la membrane externe, ils ont cristallisé les deux porines de *P. stuartii*, correspondant à 70% du contenu protéique de la membrane externe, et résolu leurs structures à résolution atomique par cristallographie aux rayons X. Les deux structures ont révélé une architecture commune, formée par l'assemblage face-à-face de deux trimères de porines (DOTs, pour *dimers of trimers*) par leurs boucles extracellulaires. Dans les DOTs, les canaux des porines sont ouverts et se font face, suggérant qu'ils pourraient permettre une communication chimique directe, au sein des communautés flottantes. Un tel mécanisme de communication serait adopté même à très basse densité cellulaire, i.e. quand le biofilm est encore immature et vulnérable au traitement antibiotique. Cette découverte, qui désigne les porines comme nouvelles cibles dans la lutte contre les biofilms, pourrait permettre le développement d'approches thérapeutiques nouvelles.

Porin self-association enables cell-to-cell contact in *Providencia stuartii* floating communities. El-Khatib M, Nasrallah C, Lopes J, Tran QT, Tetreau G, Basbous H, Fenel D, Gallet B, Lethier M, Bolla JM, Pagès JM, Vivaudou M, Weik M, Winterhalter M, Colletier JP. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*; doi: 10.1073/pnas.1714582115.



PUBLICATIONS

A multidrug ABC transporter with a taste for GTP. Orelle C, Durmort C, Mathieu K, Duchêne B, Aros S, Fenaille F, André F, Junot C, Vernet T, Jault JM. *Scientific Reports*;8(1):2309

A new hope to fight invasive fungal infection. Petosa C, Govin J, Mietton F. *Medecine Sciences*, 34:123-125

Atomic resolution conformational dynamics of intrinsically disordered proteins from NMR spin relaxation. Salvi N, Abyzov A, Blackledge M. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*; 102-103:43-60

Autoantibodies targeting ficolin-2 in systemic lupus erythematosus patients with active nephritis. Colliard S, Jourde-Chiche N, Clavarino G, Sarrot-Reynaud F, Gout E, Deroux A, Fougere M, Bardin N, Bouillet L, Cesbron JY, Thielens NM, Dumestre-Pérard C. *Arthritis Care Res.* doi: 10.1002/acr.23449.

Chromophore Isomer Stabilization Is Critical to the Efficient Fluorescence of Cyan Fluorescent Proteins. Gotthard G, von Stetten D, Clavel D, Noirclerc-Savoye M, Royant A. *Biochemistry* 56, 6418-6422

Functional characterization of cell-free expressed Kv1.3 channel using a voltage-sensitive fluorescent dye. Cortes S, Barette C, Beroud R, De Waard M, Schaack B. *Protein Expression and Purification*;145:94-99

How Detergent Impacts Membrane Proteins: Atomic-Level Views of Mitochondrial Carriers in Dodecylphosphocholine. Kurauskas V, Hessel A, Ma P, Lunetti P, Weinhäupl K, Imbert L, Brutscher B, King MS, Sounier R, Dolce V, Kunji E, Capobianco L, Chipot C, Dehez F, Bersch B, Schanda P. *Journal of Physical Chemistry Letters*, acs.jpcllett.8b00269

Impact of the surface charge of polydiacetylene micelles on their interaction with human innate immune protein C1q and the complement system. Thielens N, Belime A, Gravel E, Ancelet S, Caneiro C, Doris E, Ling WL. *International Journal of Pharmaceutics* 536, 434-439

New branched amino acids for high affinity dendrimeric DC-SIGN ligands. Cattiaux L, Porkolab V, Fieschi F, Mallet JM. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* ;26(5):1006-1015

Online Raman spectroscopy for structural biology on beamline ID29 of the ESRF. von Stetten D, Giraud T, Bui S, Steiner RA, Fihman F, de Sanctis D, Royant A. *Journal of Structural Biology*; 200, 124-127

Perturbations of Native Membrane Protein Structure in Alkyl Phosphocholine Detergents: A Critical Assessment of NMR and Biophysical Studies. Chipot C, Dehez F, Schnell JR, Zitzmann N, Pebay-Peyroula E, Catoire LJ, Miroux B, Kunji ERS, Veglia G, Cross TA, Schanda P. *Chemical Reviews*; doi: 10.1021/acs.chemrev.7b00570

Pore-forming activity of the *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion system translocon alters the host epigenome. Dortet L, Lombardi C, Cretin F, Dessen A, Filloux A. *Nature Microbiology*;3(3):378-386

Rational-Differential Design of Highly Specific Glycomimetic Ligands: Targeting DC-SIGN and Excluding Langerin Recognition. Porkolab V, Chabrol E, Varga N, Ordanini S,

Sutkevičiūtė I, Thépaut M, García-Jiménez MJ, Girard E, Nieto PM, Bernardi A, Fieschi F. *ACS Chemical Biology* doi: 10.1021/acscchembio.7b00958

Role of Phosphorylation in Moesin Interactions with PIP 2 -Containing Biomimetic Membranes. Lubart Q, Vitet H, Dalonneau F, Le Roy A, Kowalski M, Lourdin M, Ebel C, Weidenhaupt M, Picart C. *Biophysical Journal, Biophysical Society*; 114 (1), 98-112

Tracking the route of molecular oxygen in O2-tolerant membrane-bound [NiFe] hydrogenase. Kalms J, Schmidt A, Frielingsdorf S, Utesch T, Gotthard G, von Stetten D, van der Linden P, Royant A, Mroginski MA, Carpentier P, Lenz O, Scheerer P. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*;115(10):E2229-E2237

CONTRATS OBTENUS PAR L'IBS

Le projet de recherche suivant a été sélectionnés par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) :

- ANR Tremplin ERC3, **projet MULTIMOTIF** (Des motifs répétés dans des protéines intrinsèquement désordonnées de l'endocytose clathrine-dépendante), coordinatrice : Sigrid Milles (groupe FDP),

PARTENARIATS

Plusieurs équipes de l'IBS sont associées au Laboratoire International Associé CNRS-University of Illinois at Urbana-Champaign dont les équipes principales sont celles de Chris Chipot (Nancy) et Emad Tajkhorshid (Urbana-Champaign). La participation au LIA nous permet de nous rapprocher des meilleures équipes de dynamique moléculaire et plus généralement de chimie théorique pour la modélisation de systèmes biologiques. La réunion de démarrage du LIA a eu lieu à Nancy les 7 et 8 février. Plusieurs personnes de l'IBS des groupes Membrane, Channels, RMN, FDP et EBIV ont présenté leurs résultats, ce meeting a aussi été l'occasion de prendre des contacts avec les équipes américaines.

NOMINATIONS



Coordinateur du Comité de Programme n°5 «Biologie – Santé» de SOLEIL depuis 2013, **Thibaut Crepin** (IBS/VRM) est renouvelé dans cette fonction jusqu'en avril 2020.



Monika Spano (IBS/GSY) a été nommée au Conseil consultatif des sciences de l'European Spallation Source (ESS) pour 3 ans.

RENCONTRES SCIENTIFIQUES

IBS GET TOGETHER - 05 AVRIL 2018 - IBS

Le prochain *IBS Get Together* est prévu le 05 avril. Il débutera par un rdv scientifique à 16h en salle des séminaires et se poursuivra à partir de 16h30 par un moment convivial dans le hall d'entrée.

ATELIER EMBO SUR LA CARACTÉRISATION DES COMPLEXES MACROMOLÉCULAIRES PAR LA BIOLOGIE STRUCTURALE INTÉGRATIVE - 12 AU 19 MAI 2018, EPN

Cet atelier vise à expliquer les techniques utilisées pour produire, purifier, reconstituer et caractériser des complexes macromoléculaires afin de réaliser la détermination de leur structure à une résolution atomique ou pseudo-atomique.

Les conférences seront ouvertes à tous les membres du PSB. Cet atelier est co-organisé par Marco Marcia (EMBL), Montse Soler López (ESRF), Daniele DeSanctis (ESRF), Estelle Mossou (ILL) et Carlo Petosa (IBS). En savoir plus sur: <http://meetings.embo.org/event/18-characterisation>.

LES HOUCHES - ATELIER SUR LA DYNAMIQUE DES PROTÉINES - DU 27 MAI AU 1ER JUIN 2018 - LES HOUCHES

Cet atelier international est un forum pour présenter et discuter des résultats d'approches expérimentales de pointe (notamment la spectroscopie optique, la spectroscopie RMN, la cristallographie par rayons X, les XFEL, la microscopie électronique, la microscopie à force atomique et les méthodes de diffusion), ainsi que des méthodes théoriques et informatiques pour l'étude de la dynamique des protéines.

L'atelier Les Houches - TSRC Protein Dynamics s'ajoute à l'atelier TSRC Protein Dynamics, qui a lieu tous les deux ans, les années impaires, au Telluride Science Research Center de Telluride, au Colorado. Aux Houches, une trentaine de conférenciers invités feront des présentations orales comprenant une introduction pédagogique à la méthodologie employée, suivies d'applications issues de leur propre travail. Chaque présentation de 30 minutes sera suivie de 15 minutes de discussion. En plus des 30 conférenciers invités, il y aura de l'espace pour 30 étudiants et participants postdoctoraux qui pourront présenter des affiches. Le nombre relativement restreint de participants favorise l'échange d'idées entre les disciplines et favorise la collaboration. Les organisateurs de cet atelier sont James Fraser (UCSF, USA), Matthias Heyden (Max-Planck Institute, Mülheim an der Ruhr, Germany), Paul Schanda (IBS/NMR) et Martin Weik (IBS/DYNAMOP).

Pour en savoir plus, veuillez consulter la page web dédiée : www.sites.google.com/site/houches2018/.

JOURNÉE SCIENTIFIQUE DE L'IBS - 07 JUIN 2018 - SAINT MARTIN D'HÈRES

La 11ème journée scientifique de l'IBS aura lieu le jeudi 07 juin à l'Amphi 11 du Bâtiment Stendhal sur le domaine universitaire. Cette journée sera l'occasion de valoriser les activités de recherche de nos laboratoires, à travers des communications orales par divers intervenants, ainsi que des sessions posters et flashs (obligatoires pour les étudiants et postdocs de 2ème année et facultatives au de-là).

ECOLE D'ÉTÉ DES GLYCOSCIENCES STRUCTURALES - 02 AU 04 JUILLET 2018 - GRENOBLE

L'édition 2018 de l'Ecole d'Été des Glycosciences Structurales aura lieu du 02 au 04 juillet, à l'IBS sur le campus EPN et au CERMAV sur le campus UGA. Cette université est co-organisée par le projet Glyco@Alps CDP de l'Idex UGA et le réseau européen PhD4GlycoDrug. Les glycosciences sont un domaine en pleine expansion qui touche de nombreux domaines de la

chimie, de la biologie et de la médecine. Les structures des complexes glycanes ou protéines/glycanes sont d'une grande importance puisqu'elles sont des éléments structuraux clés dans les cellules et dans les événements de signalisation à leur surface. L'atelier présentera et formera de jeunes scientifiques, issus du milieu de la chimie ou de la biologie, aux approches les plus récentes pour déterminer les propriétés structurales et dynamiques des glucides, des récepteurs de liaison aux glycanes et analyser leurs complexes. De jeunes chercheurs de Grenoble et de toute l'Europe participeront à des conférences, ainsi qu'à des travaux pratiques de modélisation et de techniques expérimentales et visiteront les lignes de faisceaux à l'ESRF. Date limite d'inscription : 20 avril 2018.

Plus d'informations seront bientôt disponibles sur glycoalps.univ-grenoble-alpes.fr.

PLATEFORMES

Focus sur le projet FIP2 à l'ESRF

Une nouvelle ligne de lumière à l'ESRF pour la cristallographie des protéines

Dans le contexte de la mise à niveau de l'ESRF (upgrade ESRF-EBS) la ligne de lumière FIP, ligne Française pour la cristallographie des macromolécules biologiques, sera relocalisée sur le port BM07 en tant que nouvelle ligne de lumière, sous le nom de FIP2. La ligne FIP, actuellement en service sur le port BM30A, cessera donc son activité en novembre de cette année, après avoir servi la communauté des cristallographes des protéines pendant presque 20 ans. En effet, FIP a accueilli ses premières expériences en mai 1999, et a contribué depuis son démarrage à plus de 540 publications et 580 structures déposées dans la « Protein data Bank ».

Une nouvelle infrastructure accueillera l'ensemble des éléments de la nouvelle ligne de lumière. Cette infrastructure est financée grâce au soutien du CEA et du CNRS, et aux efforts consentis collectivement par l'ensemble des lignes CRG françaises. FIP2 sera, comme FIP l'est actuellement, gérée par une équipe du Groupe Synchrotron de l'IBS et intégrée à l'ensemble des lignes françaises de l'ESRF (lignes « CRG »). Elle sera accessible à la communauté des cristallographes à travers un comité de programme commun avec les lignes de lumière de SOLEIL (temps de faisceau « national ») ainsi qu'à travers le comité de programme ESRF (temps de faisceau « international »).

FIP2 : une ligne à la fois flexible et automatisée

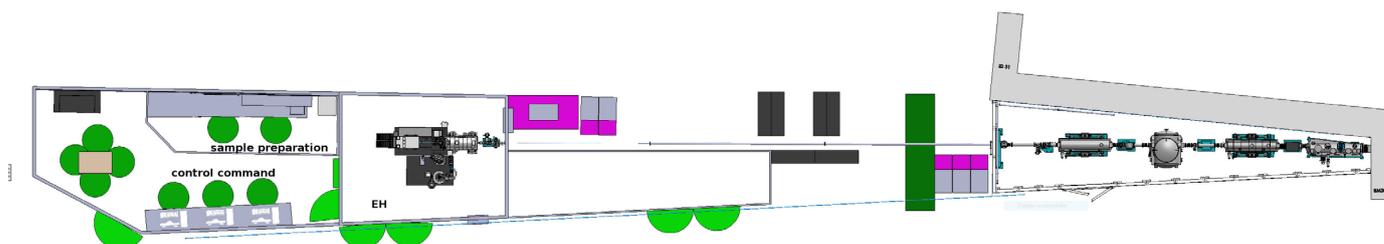
FIP2 se positionnera comme une ligne de lumière flexible, complémentaire des lignes de lumière existantes, capable de s'adapter à une grande variété d'expériences de cristallographie des protéines : expériences anormales, phasage S/K-SAD, diffraction *in situ*, haute pression, expériences couplées avec la spectroscopie UV/Vis, etc. FIP2 poursuivra également les efforts de développement en instrumentation et en méthodologie déjà menés sur FIP, et en particulier dans le domaine de l'automatisation, dont plusieurs ont été valorisés à travers des transferts vers des partenaires industriels.

Les caractéristiques de FIP2

FIP2 bénéficiera d'une source de type « wiggler 2-poles », fournissant environ trois fois plus de flux que la source actuelle de FIP. FIP2 réutilisera les éléments optiques de la ligne FIP, mais leur remise à niveau permettra de tirer le meilleur parti des performances de la nouvelle source. Ces améliorations devraient permettre un gain de brillance d'un à deux ordres de grandeur par rapport à la ligne FIP, ceci sur une plage d'énergie plus étendue (5 à 25 keV), ouvrant ainsi de nouvelles possibilités expérimentales. Par ailleurs, FIP2 réutilisera l'environnement expérimental de FIP. Cependant, de nombreux utilisateurs de FIP ont exprimé le souhait de remplacer le détecteur CCD actuel par un détecteur pixels.

Les échéances du projet FIP2

Le contrat encadrant le fonctionnement de FIP2 a été signé par l'ensemble des partis (ESRF, CEA, CNRS) en décembre 2017. Les études relatives à l'infrastructure sont à ce jour achevées. La construction de cette infrastructure sur l'emplacement BM07 démarrera en mars de cette année, en vue de son achèvement d'ici la fin de 2018. L'installation des équipements optiques et expérimentaux sera menée de début 2019 à mi-2020. Les tests et le redémarrage progressif se fera pendant la seconde moitié de 2020. Le fonctionnement normal de FIP2 est donc prévu pour la fin de 2020.



ON EN PARLE

- Cécile Breyton et Charles Arnaud, du groupe Membrane & Pathogènes de l'IBS, ont participé à une émission de radio «On the Slab» sur Radio Campus Grenoble pour parler de leurs travaux sur les pPhages. Retrouvez leur intervention sur <https://campusgrenoble.org/podcast/on-the-slab-10/> (de 5mn 48 à 34mn20).
- Une équipe EPN Campus, constituée de deux membres de chaque institut, s'est alignée au Challenge inter-entreprises de la Foulée Blanche le 03 février à Autrans. Ce premier challenge interentreprises était organisé à l'occasion de la 40eme Foulée Blanche et de la commémoration du cinquantenaire des Jeux Olympiques de Grenoble (où Autrans fut le site historique de l'épreuve de biathlon). Ce challenge était constitué d'une course de fond classique de 5 km (à laquelle ont participé Guillaume Hoffman de l'EMBL, Blanka Detlefs de l'ESRF, Claude Payre de l'ILL et Séraphine Crassac de l'IBS), suivie d'un Biathlon en relais (réalisé par Mathilde Lethier de l'EMBL, Thomas Zinn de l'ESRF, Yann Lemoine de l'ILL, et Bruno Franzetti de l'IBS).

Avec une 10eme place sur 27, nos représentants ont porté haut les couleurs du campus scientifique EPN, où l'on aime synchroniser la tête et les jambes en mêlant dynamique scientifique, culture sportive et rencontre inter-institut !

