

Les mécanismes d'infection de bactéries gram+ par les siphobactériophages

ANR-BL-2007-095 Siphophages

BIOLOGIE & SANTÉ 2011



Paulo Tavares¹, Patrick Bron² et Christian Cambillau³

1: Laboratoire de Virologie Moléculaire et Structurale, Campus CNRS, 91198, Gif-syr-Yvette

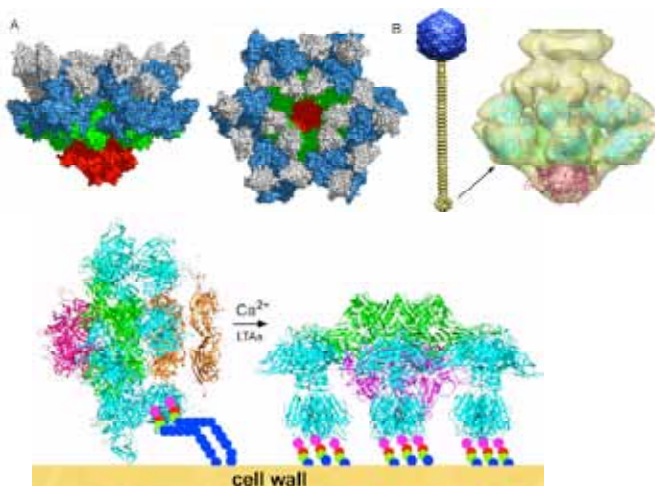
2: Centre de Biochimie Structurale, Av. de Navacelles, 34090 Montpellier

3: Architecture et Fonction des Macromolécules Biologiques, Campus de Luminy, 13009 Marseille

Problématique du projet

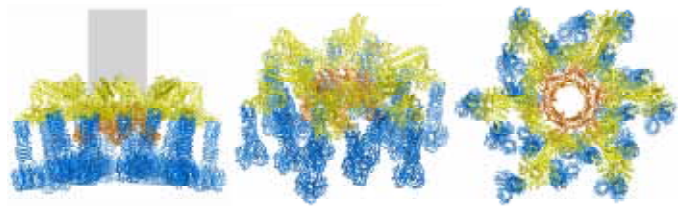
L'infection phagique de *Lactococcus lactis* est un problème économique majeur qui perturbe la fabrication de produits laitiers fermentés, un phénomène récurrent dans l'industrie laitière. Cependant, aucune vue d'ensemble moléculaire de la queue non contractile des phages n'est documentée, en dépit leur l'abondance et de l'impact économique de l'infection des bactéries Gram+. Nous avons donc choisi trois phages (SPP1, TP901-1 et p2) avec des tiges/plaques basales suffisamment diverses pour échantillonner la famille. Notre objectif fut d'analyser la structure et la fonction de leur queue et d'obtenir (i) les structures 3D individuelles des composants des tiges/plaques-basales, (ii) la structure de complexes entre ces composants et (iii) les reconstructions de sous-structures de la queue par microscopie électronique ou par rayons-X. Nous avons caractérisé le réseau d'interactions protéiques nécessaires à l'assemblage de la tige du phage, et les réarrangements moléculaires de l'appareil d'adsorption déclenchés par l'interaction avec le récepteur saccharidique ou protéique, et dont le signal aboutit à l'expulsion du génome de la capsid virale.

Structure de la baseplate du phage p2



Structure aux rayons X de la baseplate du phage lactococcal p2 en forme non activée (A,B). Cet ensemble de 1.1 MDa est un des plus gros complexes de structure connue. En présence de Ca²⁺, un changement conformationnel active la baseplate et ouvre la voie à l'éjection de l'ADN viral (Ref. 4)

Structure de la baseplate du phage TP901



Structure cristalline de la baseplate du phage TP901-1. Cet ensemble de 1.7 MDa n'a pas besoin d'activation ni de Ca²⁺.

Conclusions et acquis du projet

Nous avons déterminé les structures 3D du «tail-tip» du phage SPP1 (1,12) et des baseplates des phages p2 et TP901-1 par diffraction aux rayons X (et par microscopie électronique (EM)) (4,6). Ces deux organelles (1,2 et 1,7 MDa) comportent 18 et 54 sites de liaison aux sucres, respectivement. La baseplate du phage p2 change de conformation en présence de Ca²⁺, un cation strictement nécessaire à l'infection. La connaissance structurale des composants des baseplates a révélé que certains possèdent des structures conservées (14). En particulier, une protéine commune aux phages infectant les bactéries gram+ forme une plateforme centrale de la baseplate. En outre, certaines caractéristiques structurales sont partagées avec d'autres phages (Myoviridae) ou même avec le système de sécrétion de type VI.

Publications

1. Veesler, D., Robin, G., Lichière, J., Auzat, I., Tavares, P., Bron, P., Campanacci, V. & Cambillau, C. (2010). Crystal Structure of Bacteriophage SPP1 Distal Tail Protein (gp19.1): A BASEPLATE HUB PARADIGM IN GRAM-POSITIVE INFECTING PHAGES. *J Biol Chem* **285**, 36666-73.
2. Veesler, D., Blangy, S., Spinelli, S., Tavares, P., Campanacci, V. & Cambillau, C. (2010). Crystal structure of *Bacillus subtilis* SPP1 phage gp22 shares fold similarity with a domain of lactococcal phage p2 RBP. *Protein Sci* **19**, 1439-43.
3. Veesler, D., Blangy, S., Lichière, J., Ortiz-Lombarda, M., Tavares, P., Campanacci, V. & Cambillau, C. (2010). Crystal structure of *Bacillus subtilis* SPP1 phage gp23.1, a putative chaperone. *Protein Sci* **19**, 1812-6.
4. Sciarra, G., Bebeacua, C., Bron, P., Tremblay, D., Ortiz-Lombarda, M., Lichière, J., van Heel, M., Campanacci, V., Moineau, S. & Cambillau, C. (2010). Structure of lactococcal phage p2 baseplate and its mechanism of activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**, 6852-7.
5. Campanacci, V., Veesler, D., Lichière, J., Blangy, S., Sciarra, G., Moineau, S., van Sinderen, D., Bron, P. & Cambillau, C. (2010). Solution and electron microscopy characterization of lactococcal phage baseplates expressed in *Escherichia coli*. *J Struct Biol* **172**, 75-84.
6. Bebeacua, C., Bron, P., Lai, L., Vegge, C. S., Brondsted, L., Spinelli, S., Campanacci, V., Veesler, D., van Heel, M. & Cambillau, C. (2010). Structure and molecular assignment of lactococcal phage TP901-1 baseplate. *J Biol Chem* **285**, 39079-86.
7. Veesler, D., Dreier, B., Blangy, S., Lichière, J., Tremblay, D., Moineau, S., Spinelli, S., Tegoni, M., Pluckthun, A., Campanacci, V. & Cambillau, C. (2009). Crystal structure and function of a DARPin neutralizing inhibitor of lactococcal phage TP901-1: comparison of DARPin and camelid VHH binding mode. *J Biol Chem* **284**, 30718-26.
8. Siponen, M., Spinelli, S., Blangy, S., Moineau, S., Cambillau, C. & Campanacci, V. (2009). Crystal structure of a chimeric receptor binding protein constructed from two lactococcal phages. *J Bacteriol* **191**, 3220-5.
9. Siponen, M., Sciarra, G., Villion, M., Spinelli, S., Lichière, J., Cambillau, C., Moineau, S. & Campanacci, V. (2009). Crystal structure of ORF12 from *Lactococcus lactis* phage p2 identifies a tape measure protein chaperone. *J Bacteriol* **191**, 728-34.
10. Scaltriti, E., Tegoni, M., Rivetti, C., Launay, H., Masson, J. Y., Magadan, A. H., Tremblay, D., Moineau, S., Ramoni, R., Lichière, J., Campanacci, V., Cambillau, C. & Ortiz-Lombarda, M. (2009). Structure and function of phage p2 ORF34(p2), a new type of single-stranded DNA binding protein. *Mol Microbiol* **73**, 1156-70.
11. Auzat, I., Droge, A., Weise, F., Lurz, R. & Tavares, P. (2008). Origin and function of the two major tail proteins of bacteriophage SPP1. *Mol Microbiol* **70**, 557-69.
12. Adeline Goulet, J. L. K. H., David Veesler, Isabelle Auzat, Gautier Robin, Dale A. Shepherd, Alison E. Ashcroft, Eric Richard, Julie Lichière, Paulo Tavares, Christian Cambillau and Patrick Bron. The Opening of Spp1 Bacteriophage Tail, a Prevalent Mechanism in Gram+ Infecting Siphophages. *J Biol Chem*. In press.
13. Dale A. Shepherd, D. V., Julie Lichière, Alison E. Ashcroft and Christian Cambillau. Unraveling Lactococcal Phage Baseplate Assembly by Mass Spectrometry. *Mol. Cell. Prot.*, in press.
14. Veesler, D. & Cambillau, C. Origin and Evolution of Tailed Bacteriophages and Related Bacterial Machineries. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* In press.

CONTACT :

Coordinateur: Christian.Cambillau@afmb.univ-mrs.fr
Partenaires: paulo.tavares@vms.cnrs-gif.fr
patrick.bron@cbs.cnrs.fr

