

► Pour la troisième année, dans le cadre du module d'enseignement « Physiopathologie de la signalisation » proposé par l'université Paris-sud, les étudiants du Master « Biologie Santé » de l'université Paris-Saclay se sont confrontés à l'écriture scientifique. Ils ont sélectionné 8 articles scientifiques récents dans le domaine de la signalisation cellulaire présentant des résultats originaux, *via* des approches expérimentales variées, sur des thèmes allant des relations hôte-pathogène aux innovations thérapeutiques, en passant par la signalisation hépatique et le métabolisme. Après un travail préparatoire réalisé avec l'équipe pédagogique, les étudiants, organisés en binômes, ont ensuite rédigé, guidés par des chercheurs, une Nouvelle soulignant les résultats majeurs et l'originalité de l'article étudié. Ils ont beaucoup apprécié cette initiation à l'écriture d'articles scientifiques et, comme vous pourrez le lire, se sont investis dans ce travail avec enthousiasme ! Deux de ces Nouvelles sont publiées dans ce numéro, les autres le seront dans les prochains numéros de *m/s*. ◀

Partenariat médecine/sciences - Écoles doctorales - Masters (16)

**L'actualité scientifique
vue par les étudiants
du Master Biologie Santé,
module physiopathologie
de la signalisation,
Université Paris-Saclay**

université PARIS-SACLAY	SCHOOL BIOLOGIE, MÉDECINE, PHARMACIE	MASTER Biologie Santé
------------------------------------	--	---------------------------------

Équipe pédagogique

Karim Benihoud (professeur, université Paris-Sud)
Sophie Dupré (maître de conférences, université Paris-Sud)
Olivier Guittet (maître de conférences, université Paris-Sud)
Hervé Le Stunff (professeur, université Paris-Sud)
karim.benihoud@u-psud.fr

Série coordonnée par Laure Coulombel.

NOUVELLE

Les protéines Fe-S Wbl, de nouvelles cibles thérapeutiques pour lutter contre la tuberculose

Jeanne Guittou¹, Miriam Bekara¹, Marie-Pierre Golinelli-Cohen²

¹M1 Biologie Santé, Université Paris-Saclay,
91405 Orsay, France ;

²Institut de chimie des substances naturelles, CNRS UPR2301,
Université Paris-Sud, Université Paris-Saclay,
91190 Gif-sur-Yvette, France.

meriembekar@gmail.com

jeanne.guittou@u-psud.fr

marie-pierre.golinelli@cnrs.fr

► En 2017, à l'échelle mondiale, la tuberculose - dont la forme pulmonaire est la plus fréquente - était en tête des causes de mortalité d'origine infectieuse avec près de 1,6 million de morts et un tiers de la population mondiale infecté par *Mycobacterium tuberculosis*, son agent bactérien plus connu sous le nom de bacille de Koch [1]. Après inhalation d'aérosols de

particules infectieuses, seul un individu sur dix va développer la maladie et, dans la majorité des cas, l'infection devient « latente » ou « dormante » et l'individu asymptomatique. Cependant, les bacilles tuberculeux persistent et l'infection bactérienne peut se réactiver à tout moment, notamment en cas d'immunodépression. Lors de l'infection, les macrophages du

système immunitaire de l'hôte réagissent en libérant du monoxyde d'azote (NO) synthétisé par la NO synthase inductible, NO qui va pénétrer dans l'agent infectieux et interagir notamment avec des protéines à centre Fe-S ou à hème. Selon la concentration en NO, les conséquences sur le bacille seront variables. À fortes doses, le NO tuera le bacille tandis qu'à des doses plus



modérées, le bacille subira une adaptation transcriptionnelle drastique qui lui permettra d'entrer en phase dormante [2].

Les actinobactéries, dont fait partie *M. tuberculosis*, possèdent toutes des protéines de la famille *White B-like* (Wbl) caractérisées par la présence d'un centre Fe-S et d'un domaine de liaison à l'ADN. Ces protéines, au nombre de sept chez *M. tuberculosis*, sont mal caractérisées à ce jour mais semblent impliquées notamment dans l'entrée en phase dormante du bacille. Récemment, Kudhair *et al.* [3] se sont intéressés à WhiB1, une protéine de *M. tuberculosis* de la famille Wbl. Ils ont établi un modèle structural de la protéine, puis se sont focalisés sur le rôle de WhiB1 dans la détection du NO par la bactérie et dans la régulation de sa virulence.

Le NO détruit le centre Fe-S de WhiB1, ce qui expose son domaine de liaison à l'ADN

Après surexpression et purification de WhiB1, son étude par différentes techniques biophysiques, dont la spectrométrie de masse en conditions non dénaturantes, a permis de montrer que la protéine contient un centre Fe-S extrêmement stable en présence d'oxygène, ce qui a permis d'étudier la protéine avec son agrégat Fe-S (holo-protéine) par résonance magnétique nucléaire (RMN). Il apparaît alors que le domaine d'interaction à l'ADN de WhiB1 est enfoui dans la protéine. Cependant, la perte du centre Fe-S (apo-protéine) induit un changement conformationnel de la protéine qui permet l'exposition de ce domaine. Le centre Fe-S de WhiB1 est connu pour réagir avec le NO [4]. Les auteurs démontrent alors que huit molécules de NO sont nécessaires pour entièrement détruire le centre Fe-S de WhiB1, ce qui induit le changement conformationnel de la protéine et l'exposition de son domaine de liaison à l'ADN.

Effet du NO sur l'interaction WhiB1 : facteur σ^A

Une étude précédente avait montré que WhiB1 interagissait avec un régulateur transcriptionnel essentiel de *M. tubercu-*

losis, le facteur sigma A (σ^A), régulateur qui interagit avec l'ARN polymérase pour la reprogrammer et moduler la transcription de nombreux gènes [5]. En coexprimant σ^A avec WhiB1, les auteurs ont alors montré que holo-WhiB1 forme avec σ^A un complexe stable vis-à-vis de l'oxygène et que son centre Fe-S est essentiel pour la formation de ce complexe. Cette très grande stabilité à l'air permet donc d'exclure un rôle de senseur d'oxygène pour WhiB1. Les auteurs ont ensuite cherché à mieux décrire l'interface entre les deux protéines au sein du complexe. Des études précédentes avaient révélé que WhiB3 et WhiB7 de *M. tuberculosis* lient une région spécifique du domaine carboxy-terminal du facteur σ^A (σ^A CTD) [6]. Par une approche de coexpression de WhiB1 avec σ^A CTD, suivie de l'analyse par chromatographie, les auteurs ont montré que WhiB1 forme, elle aussi, un complexe avec σ^A CTD, complexe stable vis-à-vis de l'oxygène et réactif au NO de manière similaire à la protéine WhiB1 seule. Des expériences de RMN bidimensionnelle ont ensuite révélé que σ^A CTD interagit avec une région adjacente au centre Fe-S de WhiB1, résultat cohérent avec le rôle essentiel du centre Fe-S dans la formation du complexe. Ces résultats ont ensuite été confirmés *in vivo* par des expériences de double hybride dans la bactérie, qui ont montré que la stabilité du complexe était affectée non seulement par la production de NO, mais aussi par l'élimination du fer de la bactérie. De manière très intéressante, une des réponses du système immunitaire à une infection bactérienne consiste justement à diminuer l'accès de la bactérie au fer.

La diminution de l'expression de WhiB1 augmente celle du facteur de virulence ESX-1

Pour finir, les auteurs ont cherché à identifier les gènes dont l'expression pourrait être régulée par apo-WhiB1 dont le domaine de liaison à l'ADN est exposé. *WhiB1* étant un gène essentiel, la bactérie ne peut survivre en son absence. Les auteurs ont alors éliminé WhiB1 de la bactérie tout en introduisant un plasmide exprimant WhiB1, mais

à un niveau inférieur à celui de la protéine endogène. Ils constatent alors que WhiB1 régule 35 gènes (22 opérons sont activés tandis que 3 sont réprimés). Les gènes les plus fortement régulés appartiennent à l'opéron *espA*, qui code pour des protéines essentielles à l'activité du facteur de virulence ESX-1, système majeur de sécrétion spécialisé dans le transport de protéines à travers les membranes hydrophobes et imperméables des mycobactéries. Ce système serait impliqué dans la virulence de la bactérie en permettant notamment la sécrétion de protéines capables d'interrompre des étapes clés de la réponse immunitaire de l'hôte [7]. Cette régulation de *espA* par WhiB1 semble être directe, car une expérience de retard sur gel montre qu'apo-WhiB1 se lie directement à la région du promoteur de l'opéron *espA*.

Les protéines Wbl : de nouvelles cibles thérapeutiques potentielles pour la tuberculose

Découvertes il y a 40 ans, les protéines Wbl, protéines à centre Fe-S essentielles à la régulation des processus de développement et de virulence des actinobactéries, sont encore mal caractérisées. Cette étude présente un premier modèle structural de WhiB1 de *M. tuberculosis*, et permet de mieux comprendre le rôle des protéines Wbl et de leur centre Fe-S dans la signalisation et la médiation de la virulence bactérienne. Ainsi, en absence de NO, holo-WhiB1 forme un complexe avec le facteur σ^A qui est alors susceptible d'interagir avec l'ARN polymérase pour activer certains gènes de *M. tuberculosis*. En réaction à l'infection, les macrophages de l'hôte libèrent du NO, qui détruit le centre Fe-S de WhiB1 (apo-WhiB1). Le complexe WhiB1: σ^A se dissocie et WhiB1 subit un changement conformationnel qui expose son domaine de liaison à l'ADN. Celui-ci va alors réguler différents opérons. Ainsi, l'opéron *espA*, opéron essentiel au fonctionnement du système de sécrétion ESX-1 impliqué dans la virulence bactérienne, va être réprimé (Figure 1). Cet article met donc en lumière le rôle fondamental joué par le centre Fe-S de WhiB1 dans la régulation de la virulence

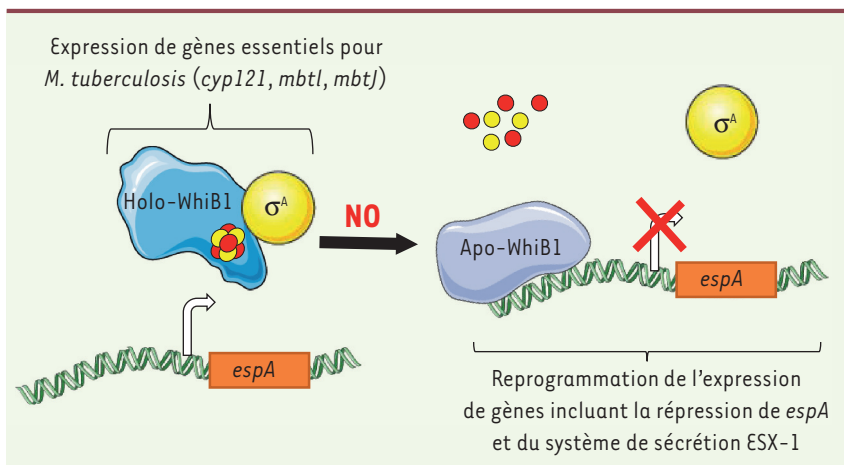


Figure 1. La protéine WhiB1 de *M. tuberculosis* est un régulateur négatif du système de sécrétion ESX-1 en réponse au NO produit par le système immunitaire de l'hôte infecté. En absence de NO, WhiB1 possède un centre Fe-S représenté sur la figure par des boules rouges et jaunes (holo-WhiB1) et forme un complexe avec σ^A . Le complexe WhiB1: σ^A est alors susceptible d'interagir avec l'ARN polymérase pour activer un sous-ensemble de gènes de *M. tuberculosis* (*cyp121*, *mbt1*, *mbt2*). Lorsque les macrophages de l'hôte infecté produisent du NO, le centre Fe-S de WhiB1 est détruit (apo-WhiB1). Ceci induit un changement conformationnel de la protéine et expose son domaine de liaison à l'ADN qui va alors réguler différents opérons, dont l'opéron *espA*, opéron essentiel à

l'activité du facteur de virulence ESX-1, qui sera réprimé.

bactérienne en réponse à la production de NO par le système immunitaire. De manière très intéressante, une étude récente a montré que WhiB6 est, lui aussi, capable de réguler très finement ESX-1 sous le contrôle de son centre Fe-S [8]. L'infection étant un processus dynamique, l'adaptation de *M. tuberculosis* implique donc une modulation continue de son profil transcriptionnel global en réponse à un environnement lié à l'hôte, dont la production de NO par les macrophages du poumon infecté. Ainsi, les protéines Fe-S de la famille Wbl apparaissent comme des régulateurs majeurs de la virulence de ce pathogène ; il est désormais fondamental de comprendre comment ces protéines se coordonnent pour moduler la transcription de gènes en réponse à l'environnement et permettre au pathogène de survivre (phase de latence) ou de se réactiver. De manière plus générale, il apparaît que différentes bactéries pathogènes utilisent les protéines Fe-S pour contrôler leur virulence [9, 10] comme cela

a été montré récemment dans le cas de *Salmonella enterica*, l'agent pathogène responsable de la salmonellose [11] (→).

À l'heure où un besoin urgent de nouvelles molécules se fait sentir en remplacement des traditionnelles combinaisons d'antibiotiques utilisées pour lutter contre la tuberculose, les protéines Wbl apparaissent comme de nouvelles cibles thérapeutiques potentielles. ♦

The Fe-S proteins Wbl, new therapeutic targets to fight tuberculosis

LIENS D'INTÉRÊT


Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. WHO. *Global tuberculosis report 2017*. Genève, Suisse : WHO Press, 2017.
2. Chinta KC, Saini V, Glasgow JN, et al. The emerging role of gasotransmitters in the pathogenesis of tuberculosis. *Nitric Oxide* 2016 ; 59 : 28-41.

(→) Voir la Nouvelle de A. Carreaux et al., *m/s* n° 6-7, juin-juillet 2017, page 603

3. Kudhair BK, Hounslow AM, Rolfe MD, et al. Structure of a Wbl protein and implications for NO sensing by *M. tuberculosis*. *Nat Commun* 2017 ; 8 : 2280.
4. Smith LJ, Stapleton MR, Fullstone GJ, et al. *Mycobacterium tuberculosis* WhiB1 is an essential DNA-binding protein with a nitric oxide-sensitive iron-sulfur cluster. *Biochem J* 2010 ; 432 : 417-27.
5. Feng L, Chen Z, Wang Z, et al. Genome-wide characterization of monomeric transcriptional regulators in *Mycobacterium tuberculosis*. *Microbiology* 2016 ; 162 : 889-97.
6. Burian J, Yim G, Hsing M, et al. The mycobacterial antibiotic resistance determinant WhiB7 acts as a transcriptional activator by binding the primary sigma factor SigA (RpoV). *Nucleic Acids Res* 2013 ; 41 : 10062-76.
7. Wong KW. The role of ESX-1 in *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis. *Microbiol Spectr* 2017 ; 5 : doi: 10.1128.
8. Chen Z, Hu Y, Cumming BM, et al. Mycobacterial WhiB6 differentially regulates ESX-1 and the Dos regulon to modulate granuloma formation and virulence in zebrafish. *Cell Rep* 2016 ; 16 : 2512-24.
9. Green J, Rolfe MD, Smith LJ. Transcriptional regulation of bacterial virulence gene expression by molecular oxygen and nitric oxide. *Virulence* 2014 ; 5 : 794-809.
10. Golinelli-Cohen MP, Bouton C. Fe-S proteins acting as redox switch: new key actors of cellular adaptive responses. *Curr Chem Biol* 2017 ; 11 : 70-88.
11. Carreaux A, de Champs de Saint-Leger S, Kouidri Y, et al. Control of the *Salmonella enterica* virulence by iron-sulfur cluster biogenesis machinery. *Med Sci (Paris)* 2017 ; 33 : 603-6.



Tarifs d'abonnement m/s - 2017

Abonnez-vous

à médecine/sciences

> Grâce à m/s, vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement page 626 dans ce numéro de m/s

