



Responsable : BENTLEY Graham (bentley@pasteur.fr)

Résumé

Les projets de recherche de l'Unité d'Immunologie Structurale sont axés sur l'étude structurale de la reconnaissance antigénique par les techniques de radiocristallographie. Certains de nos projets concernent des molécules intéressantes pour le développement de vaccins ou de drogues. En particulier, nous nous intéressons aux antigènes de surface du *Plasmodium* qui sont des candidats vaccinaux anti-malaria.

Rapport d'activité

Etudes Structurales d'une Protéine de Surface du Mérozoïte de *Plasmodium* (G.A.Bentley, G. Boulot, L. Larret, J.C. Pizarro, M.M. Riottot, B. et Vulliez-Le Normand en collaboration avec S. Longacre (Immunologie Moléculaire des Parasites, I.P.) et F. Nato, Plateaux technique 6: Production de Protéines Recombinantes et d'Anticorps, I.P.)

Le paludisme, la maladie parasitaire la plus répandue dans le monde, entraîne plus de deux million de morts chaque année. Avec l'émergence de résistance du parasite *Plasmodium* aux médicaments anti-paludéens, le développement d'un vaccin est devenu de haute priorité. Nous étudions les antigènes de surface du *Plasmodium* afin de contribuer à l'optimisation de certains candidats vaccinaux, mais également dans l'optique d'approfondir nos connaissances de la biologie fondamentale de l'organisme.

La protéine de surface du mérozoïte, MSP1, est impliquée dans l'invasion du globule rouge par *Plasmodium*, le parasite protozoaire responsable du paludisme. Cette protéine, ancrée à la membrane par une liaison de type glycosyl phosphatidylinositol (GPI), subit plusieurs clivages protéolytiques au cours de la maturation du mérozoïte. Bien que la fonction de MSP1 soit très peu caractérisée au niveau moléculaire, ces clivages sont nécessaires pour l'invasion du globule rouge et, par conséquent, pour le cycle de vie du parasite chez l'hôte. Les protéines recombinantes, correspondant aux produits protéolytiques de MSP1, peuvent induire une réduction importante de parasitémie chez le singe après immunisation, ce qui explique le grand intérêt de cet antigène pour le développement de vaccins. Afin de mieux comprendre le rôle de MSP1 dans l'infection de l'érythrocyte par le mérozoïte de *Plasmodium*, et le(s) mécanisme(s) de protection immunitaire induit par la molécule, nous étudions la structure de deux fragments recombinants de l'antigène, MSP1-19 et MSP1-42, ainsi que leurs complexes avec des anticorps monoclonaux, par radiocristallographie. Nous avons précédemment déterminé la structure du MSP1-19 de *P. cynomolgi* par radiocristallographie. Nos efforts ont été ciblés sur les fragments provenant de *P. falciparum*, l'espèce la plus pathogénique pour l'homme.

Etude structurale d'un anticorps spécifique d'une protéine ribosomale de *T. cruzi* (G.A. Bentley, G. Boulot et J.C. Pizarro, en collaboration M. Hontebeyrie, (Repliement et Modélisation des Protéines, I.P.).

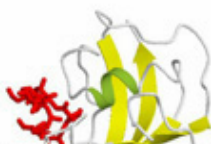
La maladie de Chagas, dont l'agent étiologique est le protozoan *Trypanosoma cruzi*, est une maladie tropicale qui affecte la plupart des pays en Amérique Latine. Des anticorps induits par la protéine ribosomale P2 β de *T. cruzi* semblent être associés à une cardiomyopathie chronique dans la maladie de Chagas. Cette pathologie est liée à la présence d'anticorps spécifiques à la région C-terminale de la protéine P2 β du parasite, dont certains d'entre eux peuvent interagir avec les peptides dérivés de la deuxième boucle du récepteur β 1-adrénérique humain présent dans les cardiomyocytes. Notre objectif est d'étudier la structure de ces anticorps et leur interaction avec la protéine P2 β et des peptides épitopiques du récepteur β 1-adrénérique afin de comprendre la réactivité croisée de ces anticorps au niveau structural et les implications pour une réponse auto-immune dans la maladie de Chagas.

Nous avons à notre disposition un anticorps monoclonal, 17.2, spécifique à la région C-terminale du P2 β , ainsi que cette dernière sous forme de protéine recombinante. L'anticorps 17.2 porte une activité chronotropique positive sur des cardiocytes *in vitro* via la reconnaissance d'un épitope situé sur la seconde boucle externe du récepteur β 1 adrénérique. Ce système semble donc un bon modèle pour étudier l'hypothèse d'un rôle d'auto-immunité dans la maladie de Chagas. A l'heure actuelle, nous avons déterminé la structure cristalline du fragment Fab de 17.2 sous forme de complexe avec la protéine ribosomale, P2 β , ainsi que sous forme de complexe avec le fragment peptidique qui porte l'épitope de cette même protéine. Nous sommes en train d'étudier Fab-17.2 sous forme de complexe avec le peptide correspondant à l'épitope reconnu sur le récepteur β 1-adrénérique humain (la deuxième boucle du récepteur).

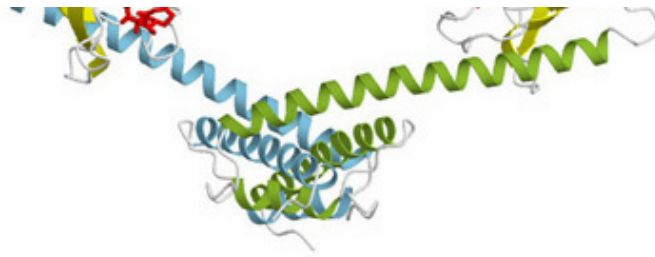
Etude structurale de FkpA, une isomérase peptidyl-prolyl d'*E. coli* (G.A. Bentley, F. Saul et B. Vulliez-Le Normand, en collaboration avec J.Ph. Arié et J.M. Betton, (Repliement et Modélisation des Protéines, I.P.).

FkpA est une isomérase peptidyl-prolyl présente dans la région périplasmique d'*E. coli*. La protéine comprend 245 résidus et elle est divisée en deux domaines: un domaine N-terminal de fonction inconnue et un domaine C-terminal homologue au FKBP (ou "FK506-binding protein") et qui est capable de fixer l'immunosuppresseur FK506. FkpA est une protéine de choc thermique catalysant certaines des étapes lentes du repliement des protéines. L'objectif de notre étude est de définir les régions de FkpA impliquées dans ses fonctions de chaperon et d'isomérase.

Nous avons déterminé la structure tridimensionnelle FkpA sous trois formes différentes: FkpA entier, FkpA tronqué de ses 25 résidus en position C-terminale, et FkpA complexé avec FK506 (FK506 empêche la fonction d'isomérase mais pas celle de chaperon). FkpA est dimérique grâce à des interactions entre les domaines N-terminaux de chaque monomère par un nœud d'hélices. Dans la structure de FkpA entier, les derniers 25 résidus ne sont pas visibles, montrant qu'ils sont désordonnés. C'est cette observation qui nous a suggéré de construire une nouvelle construction recombinante avec cette partie enlevée, afin d'obtenir des cristaux de meilleure qualité. Le complexe du FkpA tronqué avec FK506 montre le ligand fixé de la même façon observée pour l'homologue FKBP, ce qui est compatible avec l'hypothèse



que celle-ci est le site actif pour la fonction d'isomérase. La structure du FkpA sous ces différentes formes ne donne aucune éclaircissement sur le mécanisme de la fonction chaperon (qui est indépendant de la fonction isomérase). D'ailleurs, nous avons déterminé la structure de MalE31, un mutant de MalE qui forme des corps d'inclusion lors de son expression suite d'un repliement défectueux. En présence de FkpA, MalE31 est correctement replié



et sa structure tridimensionnelle est très proche à celle de MalE. Ce résultat est concordant avec d'autres observations qui suggèrent que le repliement de MalE31 est gouverné par de facteurs cinétiques.

Figure 1: Le dimer de FkpA sous forme de complexe avec FK506 (en rouge).

Mots-clés : biologie structurale, radiocristallographie, reconnaissance antigénique, structure d'anticorps, antigènes de Plasmodium

Public

> 1



Personnel

Secrétariat	Chercheurs	Stagiaires	Autre personnel
FEJT Françoise (ffejt@pasteur.fr)	BENTLEY Graham, chef de laboratoire I.P (bentley@pasteur.fr) LEMA Fernando, chargé de recherche I.P (lema@pasteur.fr) SAUL Frederick, chargé de recherche I.P (fsaul@pasteur.fr)	BADAUT Cyril, postdoctorant PIZARRO Juan-Carlos, postdoctorant IGNONET Sébastien, thésard	BOULOT Ginette, IE2, CNRS (gboulot@pasteur.fr) LARRET Laurent, technicien supérieur (llarret@pasteur.fr) RIOTTOT Marie-Madeleine, IR1, CNRS (roittot@pasteur.fr) VULLIEZ-LE NORMAND Brigitte, ingénieur I.P. (bvulliez@pasteur.fr)

Rapports d'activité 2002 - Institut Pasteur

 [Début de page](#)

 [Sommaire](#)

 [Portail Institut Pasteur](#)

En cas de problèmes, de remarques, ou de questions concernant cette page Web écrire à rescom@pasteur.fr