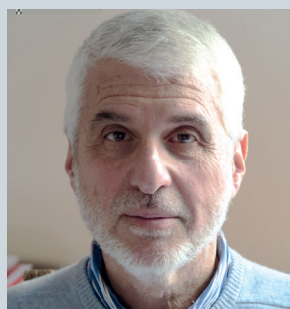


## José Manuel Andreu Morales

Profesor de Investigación  
j.m.andreu@cib.csic.es



**PhD, 1976**  
Universidad Complutense de Madrid  
**Visiting Scientist, 1976**  
Max-Planck-Institut (Freiburg, D)  
**Postdoctoral, 1978-1981**  
**Visiting Scientist, 1985**  
Department of Biochemistry, Brandeis University (Waltham, MA, USA)  
**Staff Scientist, 1981**  
**Group Leader, 1983**  
**Senior Scientist, 1987**  
**Research Professor, 1993**  
CIB, CSIC

## Otros miembros | Other lab members:

Sonia Huecas Gayo  
María A. Oliva Blanco  
Lidia Araujo Bazán  
Patricia Castellen  
Laura Ruiz Ávila  
Albert Vergoñós Tomás  
Erney Ramírez-Aportela  
David Juan Rodríguez

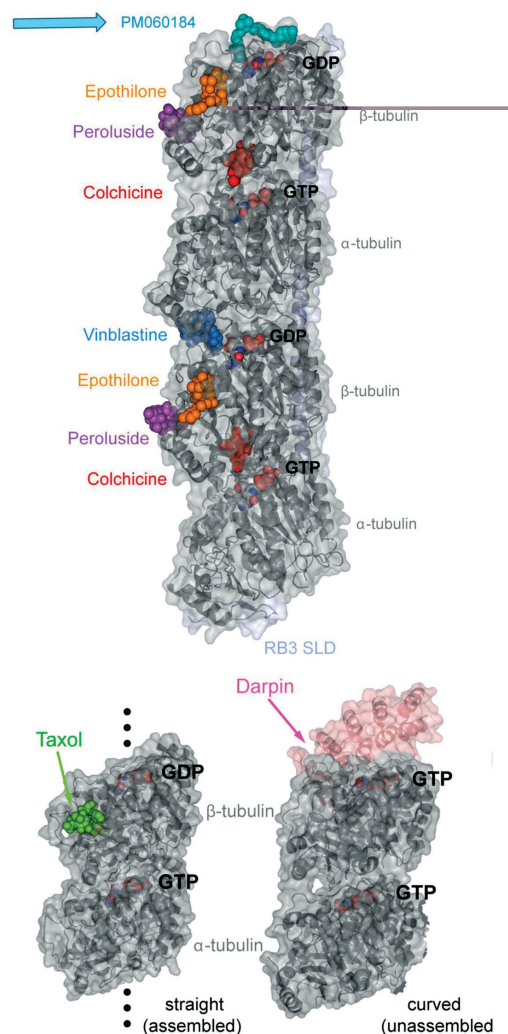
<http://www.cib.csic.es/tubulinas>

# Tubulinas y FtsZ

Modulación del ensamblaje de proteínas esenciales  
Las GTPasas de la superfamilia de tubulina son proteínas del citoesqueleto necesarias para la división celular, segregación de DNA ó la forma celular. Están presentes en eucariotas, bacterias, arqueas, plásmidos y fagos. Investigamos como funcionan estas máquinas de ensamblaje, y como inhibir selectivamente la proteína de división FtsZ con nuevos agentes antibacterianos.

**F**tsZ es la proteína organizadora del anillo de división celular de la mayoría de las bacterias. Es también una diana atractiva para buscar nuevos antibióticos con los que combatir la aparición continua de bacterias patógenas resistentes a los antibacterianos actualmente en uso. FtsZ comparte la estructura básica de la tubulina eucariótica, con sus dominios de unión de GTP y activación de GTPasa. Ambas ensamblan formando contactos entre el dominio de unión de GTP de una subunidad y el de activación de GTPasa de la siguiente, de forma que la hidrólisis de GTP desencadena el desensamblaje. Las dos forman polímeros dinámicos, filamentos ó microtúbulos, esenciales respectivamente para la división celular o para la segregación cromosómica y el tráfico intracelular. La superfamilia de tubulina/FtsZ incluye también otras tubulinas eucarióticas, la tubulina bacteriana BtubA/B, la CetZ de arqueas, las TubZ de plásmidos e incluso las proteínas homólogas codificadas por fagos, que descubrimos a la vez que otros laboratorios; su ensamblaje y desensamblaje es capaz de producir movimiento sin proteínas motoras.

Varios conocidos fármacos antitumorales actúan inhibiendo la dinámica de los microtúbulos, uniéndose cerca de las interfaces de ensamblaje de tubulina; en esta línea, recientemente hemos participado en el hallazgo de un nuevo sitio de unión para agentes antitumorales en tubulina. Respecto de FtsZ, determinamos el mecanismo de estabilización de los filamentos de FtsZ por el antibacteriano PC190723, que se une en una hendidura entre los dos dominios bloqueando FtsZ en la conformación activa; y hemos desarrollado los primeros agentes antibacterianos sintéticos capaces de reemplazar al GTP en su sitio de unión en FtsZ, sin afectar al ensamblaje de los microtúbulos eucarióticos. Actualmente nos proponemos comprender mejor el mecanismo de ensamblaje de FtsZ, la segregación de DNA basada en TubZ, y desarrollar nuevos inhibidores de FtsZ con actividad antibacteriana efectiva.



**Figura 1 | Figure 1**

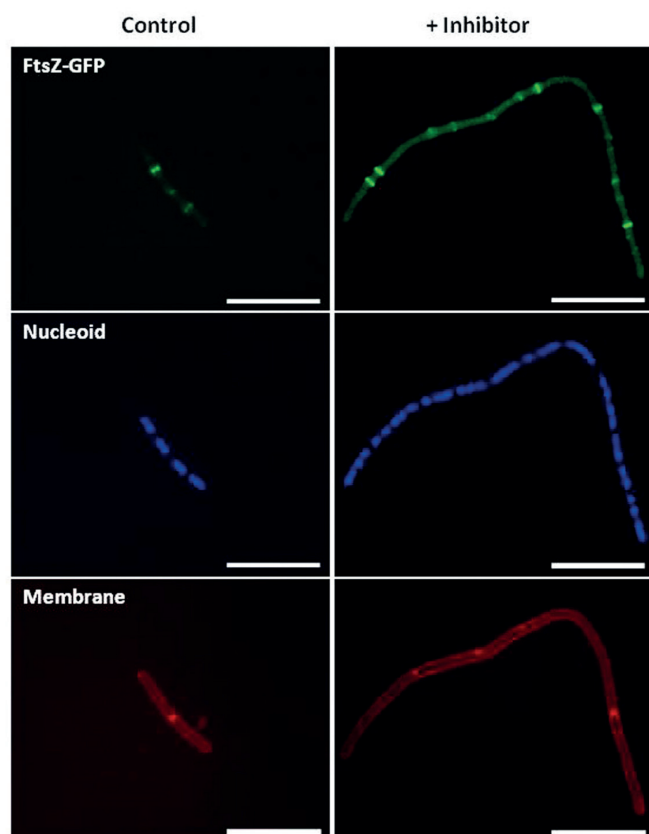
Un nuevo sitio para la unión de drogas antitumorales en tubulina. La flecha indica PM060184 unido en el extremo positivo de  $\beta$ -tubulina, lo que explica su potente inhibición del ensamblaje de microtúbulos (Pera et al., 2013; Prota et al., 2014). Se indican también los sitios ya conocidos de unión de otras drogas (a partir de las correspondientes estructuras del PDB; rev. Oliva y Andreu, 2014).

A new anticancer drug binding site in tubulin. The arrow indicates PM060184 bound at the plus end of  $\beta$ -tubulin, which explains the powerful inhibition of microtubule assembly (Pera et al., 2013; Prota et al., 2014). The known binding sites of other drugs are also indicated (figure prepared from the corresponding tubulin-drug structures at the Protein Data Bank; Oliva and Andreu, 2014 review).

## Publicaciones Seleccionadas Selected Publications

- Andreu JM, Oliva MA (2013) *Purification and assembly of bacterial tubulin BtubA/B and constructs bearing eukaryotic tubulin sequences.* **Methods in Cell Biology** 115, 269-281.
- Ruiz-Avila LB, Huecas S, Artola M, Vergoñós A, Ramírez-Aportela E, Cercenado E, Barasoain I, Vázquez-Villa H, Martín-Fontecha M, Chacón P, López-Rodríguez ML, Andreu JM (2013) *Synthetic inhibitors of bacterial cell division targeting the GTP-binding site of FtsZ.* **ACS Chem. Biol.** 8, 2072-2083.

- Pera B, Barasoain I, Pantazopoulou A, Canales A, Matesanz R, Rodríguez-Salazar J, García-Fernández LF, Moneo V, Jiménez-Barbero J, Galmarini CM, Cuevas C, Peñalva MA, Díaz JF, Andreu JM (2013) *New Interfacial Microtubule Inhibitors of Marine Origin, PM050489/PM060184, with Potent Antitumor Activity and a Distinct Mechanism.* **ACS Chem. Biol.** 8, 2084-2094.
- Keffer JL, Huecas S, Hammill JT, Wipf P, Andreu JM, Bewley CA (2013). *Chrysopaentins are competitive inhibitors of FtsZ and inhibit Z-ring formation in live bacteria.* **Bioorg Med Chem.** 21, 5673-5678.
- Marcelo F, Huecas S, Ruiz-Avila LB, Cañada FJ, Perona A, Poveda A, Martín-Santamaría S, Morreale A, Jiménez-Barbero J, Andreu JM. (2013) *Interactions of bacterial cell division protein FtsZ with C8-substituted guanine nucleotide inhibitors.*



**Figura 2 | Figure 2**

Un inhibidor de FtsZ que sustituye a GTP detiene la división bacteriana, induce localización aberrante del anillo Z, formación de foci de FtsZ, morfología anormal de los nucleoides y algunos acumulos de membrana. Las células de *Bacillus subtilis* SU570, que tienen FtsZ fusionada a GFP, se trataron con compuesto 28 (3  $\mu$ M) y se tiñeron con DAPI y FM4-64. (Imagen L. Araujo ; Artola et al., 2014).

A GTP-replacing synthetic inhibitor of FtsZ assembly arrests bacterial division inducing aberrant FtsZ ring localization, FtsZ foci, abnormal nucleoid morphology and some membrane accumulations. *Bacillus subtilis* SU570 cells that have FtsZ fused to GFP were treated with 3  $\mu$ M comp. 28 during 1 h, stained with DAPI and FM4-64. Bar: 10  $\mu$ m (image by L. Araujo; Artola et al., 2014)

## Financiación | Funding

- BFU2011-23416 (MINECO)
- S2010/BMD-2353 (CM)
- RYC-2011-07900 (MINECO)

# Tubulins & FtsZ

Targeting essential protein assemblies  
Proteins from the tubulin superfamily of GTPases are essential to divide cells, segregate DNA or for cytoskeletal and shape functions. They spread in eukaryotes, bacteria, archaea, plasmids and viruses. Our work focuses on understanding how these protein assembly machines work and evolved, and on inhibiting bacterial division protein FtsZ with small selective molecules aiming to new antibiotics.

**F**tsZ is the organizer for cell division in most bacteria, where it forms the Z-ring that recruits the other divisomal proteins. FtsZ is an attractive target to seek for new antibiotics, which are urgently needed to fight the widespread emergence of pathogens resistant to current antibiotics. FtsZ and eukaryotic  $\alpha\beta$ -tubulin share homologous core structures made of connected GTP-binding and GTPase-activating domains. They assemble forming a subunit-subunit interface where the GTP-binding domain of one subunit in a polar protofilament interacts with the GTPase activation domain of the next subunit, complementing the GTP site. GTP hydrolysis triggers disassembly, which is coupled to free subunits switching into inactive conformation. Both protein assembly machines form dynamic cytoskeletal polymers, filaments or microtubules, which are respectively essential for cell division or for DNA segregation and intracellular trafficking. The tubulin/FtsZ superfamily further spreads into eukaryotic tubulins, archaeal CetZ, bacterial tubulin BtubA/B, plasmid TubZ and even phage encoded homologs that our lab and others discovered. Their assembly and disassembly can produce motility without the assistance of motor proteins.

Microtubule dynamics is inhibited by several successful antitumor drugs that typically bind near tubulin assembly interfaces; in this context, we have recently taken part in the discovery of a new tubulin binding site for anticancer drugs. Regarding FtsZ, we determined the filament stabilization mechanism of the effective bactericide PC190723, which binds into a cleft between both FtsZ domains, and have developed the first synthetic inhibitors of bacterial division that replace GTP from FtsZ, without affecting eukaryotic microtubule assembly. We currently focus on better understanding FtsZ assembly, TubZ-based DNA segregation systems, and targeting FtsZ with small molecule inhibitors and fluorescent probes aimed to discover new antibiotic leads.

A combined NMR, biochemical and molecular modeling perspective. **J. Am. Chem. Soc.** 135, 16418-16428

- Canales A, Nieto L, Rodríguez-Salazarichs J, Sánchez-Murcia PA, Coderch C, Cortés-Cabrera A, Paterson I, Carlomagno T, Gago F, Andreu JM, Altmann KH, Jiménez-Barbero J, Díaz JF 2014 *Molecular Recognition of Epithelones by Microtubules and Tubulin Dimers Revealed by Biochemical and NMR Approaches*. **ACS Chem Biol** 9, 1033-1043
- Oliva MA, Andreu JM (2014) *Tub and FtsZ superfamily of protein assembly machines* (review) In: eLS, **Encyclopedia of Life Sciences** (e-Book chapter; John Wiley & Sons, Ltd. Chichester) doi: 10.1002/9780470015902.a0025586
- Prota A, Bargsten , Díaz JF, Marsh M , Cuevas, Liniger M, Neuhaus C, Andreu JM,

Altmann CH, Steinmetz MO (2014) *A new tubulin binding site and pharmacophore for clinically relevant microtubule-destabilizing agents*. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 111, 13817-13821.

- Ramírez-Aportela, E, Lopez-Blanco JR, Andreu JM, Chacon P 2014. *FtsZ filament dynamics and assembly switch unraveled with large-scale atomistic simulations*, **Biophys. Journal**, 107, 2164-2176.
- Artola M, Ruiz-Avila LB, Vergoñós A, Huecas S, Araujo-Bazán L, Martín-Fontecha M, Vázquez-Villa H, Turrado C, Ramírez-Aportela E, Hoegl A, Nodwell A, Barasoain I, Chacón P, Sieber SA, Andreu JM, López-Rodríguez ML 2014. *Effective GTP-replacing FtsZ Inhibitors and Antibacterial Mechanism of Action*. **ACS Chem Biol**, accepted, dx.doi.org/10.1021/cb500974d.