

## Germán Rivas Caballero

Investigador Científico  
grivas@cib.csic.es



**PhD, 1989**  
Universidad Autónoma de Madrid  
**Postdoctoral, 1990-1993**  
NIH, Bethesda, USA  
Biozentrum, Univ. Basilea, CH  
**Investigador, 1994**  
**Científico Titular, 1995**  
**Jefe de Grupo, 1996**  
**Investigador Científico, 2006**  
CIB, CSIC

### Investigadores del equipo | Staff scientists:

Carlos Alfonso Botello  
Mercedes Jiménez Sarmiento

Silvia Zorrilla López

### Otros miembros | Other lab members:

Victor Hernández Rocamora  
Elisa Jiménez Cabré  
Begoña Monteroso Marco  
Concepción García Montañés

Ana Raso Alonso  
Marta Sobrinos Sanguino  
Noelia Ropero  
Alicia Rodríguez

<http://www.cib.csic.es/es/grupo.grivas>

# Bioquímica de Sistemas de la División Bacteriana

Nuestro objetivo es entender cómo los elementos de la maquinaria de la división bacteriana (el divisoma) funcionan como un sistema integrado de interacciones moleculares para ejercer su función esencial. Desarrollamos y aplicamos novedosos abordajes de reconstitución bioquímica para construir, con un conjunto mínimo de proteínas, ensamblajes funcionales de división en ausencia de células.

## Publicaciones Seleccionadas Selected Publications

- Ahijado-Guzmán R, Alfonso C, Reija B, Salvarelli E, Mingorance J, Zorrilla S, Monteroso B, Rivas G [2013] *Control by potassium of the size-distribution of Escherichia coli FtsZ polymers is independent of GTPase activity.* **J. Biol. Chem.** 288:27358-27365.
- Cabré EJ, Sánchez-Gorostiaga A, Carrara P, Ropero N, Casanova M, Palacios P, Stano P, Jiménez M, Rivas G, Vicente M [2013] *Bacterial division proteins FtsZ and ZipA induce vesicle shrinkage and cell membrane invagination.* **J. Biol. Chem.** 288:26625-26634.
- Hernández-Rocamora VM, García-Montañés C, Reija B, Monteroso B, Margolin W, Alfonso C, Zorrilla S, Rivas G [2013] *MinC shortens FtsZ protofilaments by preferentially interacting with GDP-bound subunits.* **J. Biol. Chem.** 288:24625-24635.
- Jiménez M, Cabré EJ, Raso A, Martos A, Rivas G [2013] *Giant vesicles: a powerful tool to reconstruct bacterial division assemblies in cell-like compartments.* **Environ. Microbiol.** 15:3158-3168.
- Mellouli S, Monteroso B, Vutukuri HR, te Brinke E, Chokkalingam V, Rivas G, Huck WTS [2013] *Self-organization of the bacterial cell-division protein FtsZ in confined environments.* **Soft Matter** 9:10493-10500.
- Monteroso B, Alfonso C, Zorrilla S, Rivas G [2013] *Combined light scattering, ultracentrifugation and fluorescence correlation spectroscopy studies on the associations and assembly of the Escherichia coli cell division FtsZ protein.* **Methods** 59:349-362.
- Rivas G, Alfonso C, Jiménez M, Monteroso B, Zorrilla S [2013] *Macromolecular interactions of bacterial cell division FtsZ protein: From quantitative biochemistry and crowding to reconstructing minimal divisomes in the test tube.* **Biophys. Rev.** 5:63-77.
- Ahijado-Guzmán R, Prasad J, Rosman C, Henkel A, Tome L, Schneider D, Rivas G, Sönichsen C [2014] *Plasmonic nanosensors for simultaneous quantification of multiple protein-protein binding affinities.* **Nano Lett.** 14:5528-5532.
- Alvira S, Cuéllar J, Röhl A, Yamamoto S, Itoh H, Alfonso C, Rivas G, Buchner J, Valpuesta JM [2014] *Structural characterization of the substrate-transfer mechanism in Hsp70/Hsp90 folding machinery mediated by Hop.* **Nat Commun.** 5:5484. doi: 10.1038/ncomms6484.
- Rivas G, Vogel SK, Schwille P [2014] *Reconstitution of cytoskeletal protein assemblies for large-scale membrane transformation.* **Curr. Opin. Chem. Biol.** 22C:18-26.

**1 Organización y reconstrucción bioquímica de componentes del anillo FtsZ en sistemas de membrana:** La división bacteriana está mediada por un conjunto de proteínas que interactúan en el sitio de división, ensamblando un anillo dinámico que dispara la citokinesis y forma parte del divisoma. En *Escherichia coli*, la proteína FtsZ, principal elemento del anillo septal, se ancla a la membrana interna por la acción de las proteínas ZipA y FtsA, formando el primer ensamblaje molecular del divisoma, el proto-anillo. El posicionamiento del anillo en el punto medio está regulado por dos sistemas de control (el complejo MinCDE y la oclusión del nucleóide - SlnA) que inhiben su formación en lugares equivocados. Estudiamos las actividades e interacciones de FtsZ en reconstrucciones mínimas del proto-anillo estructuradas en sistemas de membrana, como nanodiscos, microesferas, bicapas, vesículas y microgotas (Fig. 1). Investigamos la acción de MinCDE y SlnA sobre las propiedades de divisomas mínimos.

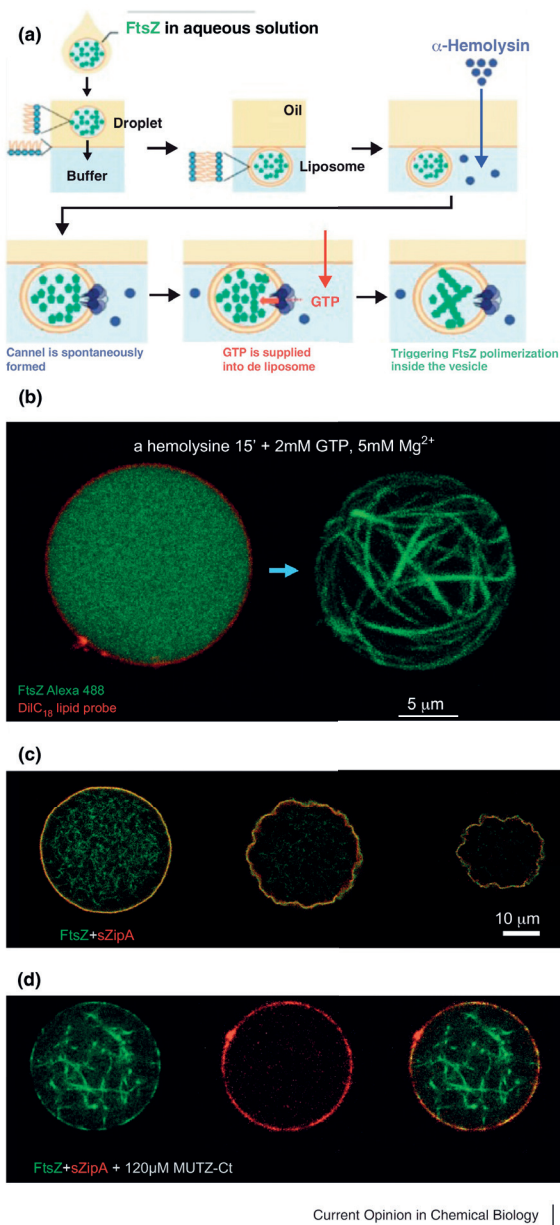
**2 Reactividad macromolecular y organización en entornos aglomerados y confinados citomiméticos:** El ensamblaje del divisoma *in vivo* tiene lugar en entornos caracterizados por la presencia de altas concentraciones de macromoléculas, que pueden estructurarse como redes dinámicas solubles o asociadas a la membrana. Aplicamos y diseñamos reconstrucciones sintéticas de estos microentornos para investigar el impacto de la exclusión de volumen y la unión a membranas sobre las propiedades y el comportamiento de divisomas mínimos.

**3 Bioquímica física de interacciones macromoleculares:** Investigamos las propiedades de asociación de FtsZ con otros elementos del divisoma mediante ultracentrifugación analítica, dispersión de luz y espectroscopías de fluorescencia (Fig. 2). En paralelo, estudiamos las interacciones de FtsZ con elementos del divisoma asociados a membrana mediante ensayos bioquímicos y biofísicos.

## Financiación | Funding

- HEALTH-F3-2009-223432. (Comunidad Europea) • BIO2011-28941-C03. (MINECO)
- RGP0050-2010. (Human Frontier Science Program)

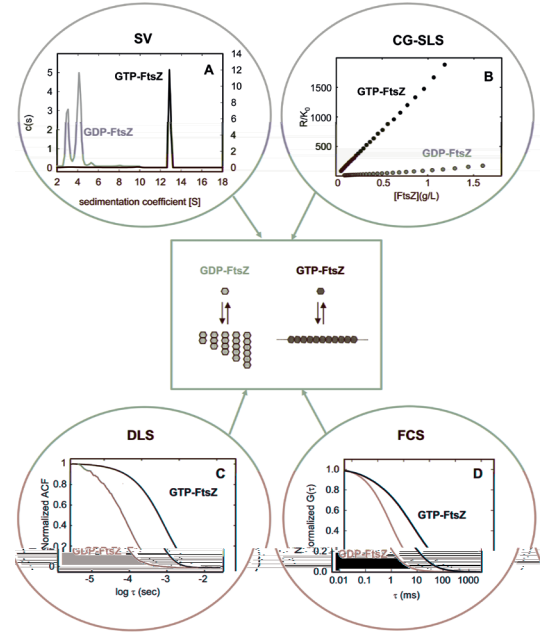




**Figura 1 | Figure 1**

Reconstitución de elementos del protoanillo en vesículas. Método de emulsión (A) para encapsular y polimerizar FtsZ dentro de GUVs permeables (B). (C) Contracción de GUVs debido a la interacción de polímeros de FtsZ y ZipA asociada a la membrana (0, 5, 10 min). (D) Bloqueo de la contracción al añadir un péptido de FtsZ que inhibe la interacción FtsZ-ZipA (Cabr   et al. 2013; Rivas et al. 2014).

Reconstitution of proto-ring elements in vesicles. Water-in-oil droplet transfer method (A) used to encapsulate and polymerize FtsZ inside permeable GUVs (B). (C) Shrinking of GUVs through the interaction of FtsZ with membrane-associated ZipA (0, 5 and 10'). (D) Blocking shrinkage by the addition of an FtsZ-derived peptide that inhibits FtsZ-ZipA interaction. (Cabr   et al. 2013; Rivas et al. 2014).



**Figura 2 | Figure 2**

Análisis biofísico de los diferentes comportamientos de los oligómeros de GDP-FtsZ (gris) y los polímeros de GTP-FtsZ (negro) a partir de medidas de velocidad de sedimentación (A), dependencia con la concentración de la dispersión de luz est  tica (B), dispersión de luz dinámica (C) y espectroscopía de correlación de fluorescencia (D). (Monterroso et al. 2013).

Biophysical analysis of the different behavior of GDP-FtsZ oligomers (grey) and GTP-FtsZ polymers (black) from measurements of sedimentation velocity (A), concentration dependence static light scattering (B), dynamic light scattering (C) and fluorescence correlation spectroscopy (D). (Monterroso et al. 2013).

# Systems Biochemistry of Bacterial Division

Our research aims at understanding how the elements of the bacterial division machinery (the divisome) work together as an integrated system of molecular interactions to fulfill its essential function. To address these questions we develop and apply novel biochemical reconstitution approaches to build, with a minimum set of elements, functional division assemblies in the absence of cells.

**1 Biochemical organization and reconstruction of FtsZ ring components in minimal membrane systems:** Bacterial division is mediated by a set of proteins that interact at the division site to assemble a dynamic ring, a structure that drives cytokinesis, forming part of the divisome. In *Escherichia coli*, the FtsZ protein, main element of the septal ring, is anchored to the inner membrane by the action of the proteins ZipA and FtsA, forming the first molecular assembly of the divisome, the proto-ring. The positioning of the ring at midcell is regulated by two control systems (MinCDE complex and nucleoid occlusion - SlmA) that inhibit its formation at wrong places. We study the activities and

interactions of FtsZ in minimal reconstructions of the proto-ring structured in membrane systems as nanodisks, microbeads, bilayers, vesicles and microdroplets (Fig. 1). We investigate the concerted action of MinCDE and SlmA on the properties of minimal divisomes.

**2 Macromolecular reactivity and organization in crowded and confined cell-like environments:** The assembly of the divisome *in vivo* takes place in environments characterized by the presence of high concentrations of macromolecules, which may be structured as soluble and membrane-associated dynamic networks. We apply and design synthetic reconstructions of

these microenvironments to investigate the impact of excluded volume and surface binding effects on the properties and behavior of minimal divisomes.

**3 Physical biochemistry of macromolecular interactions:** We investigate the association properties of FtsZ with itself and with other divisome elements using analytical ultracentrifugation, light scattering and fluorescence spectroscopies (Fig. 2). In parallel, we study the interactions of FtsZ with membrane-associated division elements by biochemical and biophysical assays.