

## Químics catalans al món: Pau Bernadó Peretó Centre de Biochimie Structurale de Montpellier (França)



El doctor Pau Bernadó i el Centre de Biochimie Structurale (CBS) de Montpellier.

Pau Bernadó Peretó (Sant Romà d'Abella, Lleida, 1974) va estudiar química a la Universitat de Barcelona (UB) (1992-1997), on s'especialitzà en química física i química orgànica. Sota la direcció dels doctors Carlos Alemán i Jordi Puiggalí, va realitzar un màster en bioquímica a la Universitat Politècnica de Catalunya (UPC), on estudià polímers emprant càlculs de química quàntica. Seguidament, va realitzar la tesi doctoral al Departament de Química Orgànica de la Facultat de Química de la UB sota la supervisió del doctor Miquel Pons (1998-2003). Durant els seus estudis doctorals, va estudiar l'estructura i la dinàmica de proteïnes combinant dades experimentals obtingudes per ressonància magnètica nuclear (RMN) i eines computacionals. La contribució més rellevant dels seus estudis doctorals va ser, en col·laboració amb el professor García de la Torre, de la Universitat de Múrcia, l'ús de les velocitats de relaxació de RMN combinat amb càlculs hidrodinàmics [1, 2].

L'any 2003, començà una estada postdoctoral finançada pel Commissariat à l'Énergie Atomique (CEA) i l'European Molecular Biology Organization (EMBO) a l'Institut de Biologie Structurale Jean-Pierre Ebel (IBS), a Grenoble. Sota la supervisió del doctor Martin Blackledge, va estudiar, en primer lloc, les fluctuacions lentes (en l'escala del mil·lisegon) de proteïnes globulars per RMN mitjançant acoblaments dipolars residuals (RDC, de l'anglès *residual dipolar coupling*) en mostres parcialment orientades. Aquests estudis, destacats a la revista *Science*, van demostrar la presència de moviments lents en la proteïna G, així com fluctuacions correlacionades al llarg de

la fulla  $\beta$  que suggerien un mecanisme per a la transmissió d'informació que podria estar relacionat amb el fenomen de l'al·lostèria [3]. Un segon objectiu va ser el desenvolupament de mètodes per caracteritzar l'estructura de les proteïnes intrínsecament desordenades (PID). Les PID són proteïnes que, malgrat no tenir estructura secundària o terciària permanentment, realitzen funcions biològiques vitals aprofitant la seva mal·leabilitat estructural. La seva flexibilitat requereix una descripció en termes de conjunts de conformacions que s'assumeix que estan en equilibri. Aquest requeriment de descripció en múltiples conformacions dificulta notablement la caracterització estructural. Pau Bernadó va desenvolupar un programa, Flexible-Meccano, que, en combinació amb RDC, permet descriure PID en l'àmbit atòmic i predir-ne les propietats estructurals [4]. Aquesta metodologia, que s'ha aplicat amb èxit a múltiples proteïnes virals o implicades en malalties neurodegeneratives, ha esdevingut el programa de referència en aquest camp [5].

A final de l'any 2005, va realitzar una estada a l'European Molecular Biology Lab (EMBL) d'Hamburg. Allí va treballar sota la supervisió del doctor Dmitri Svergun, que és una autoritat mundial en l'aplicació de la difusió de raigs X a petits angles (SAXS) a les biomolècules. Aquesta tècnica de baixa resolució és avui dia una eina fonamental en l'anàlisi estructural de macromolècules en solució. L'objectiu d'aquesta estada va ser estendre el SAXS a proteïnes altament flexibles, com les PID. Amb aquest objectiu, desenvolupà una nova estratègia, anomenada *ensemble-optimization method* (EOM), que ajusta les dades experimentals de SAXS assumint la coexistència de múltiples conformacions en solució mitjançant un algoritme genètic. L'anàlisi racional de les estructures seleccionades

proporciona la distribució de paràmetres estructurals de baixa resolució, com el radi de gir ( $R_g$ ), que la proteïna adopta en solució [6]. Aquesta metodologia ha estat un pas fonamental per a l'extensió del SAXS a l'estudi de la dinàmica de proteïnes i és avui dia la metodologia de referència.

L'any 2006, s'incorporà a l'Institut de Recerca Biomèdica (IRB) de Barcelona, amb un contracte Ramón y Cajal, en el grup de RMN de Biomolècules liderat pel doctor Miquel Pons. Pau Bernadó va liderar i participar en nombrosos projectes dirigits al desenvolupament i l'explotació de la sinergia entre la RMN i el SAXS que permetés descripcions més detallades de sistemes biològicament rellevants [7]. Destaca l'estudi estructural del domini únic de la quinasa src, una PID relacionada amb el càncer, en la qual es van identificar regions parcialment estructurades relacionades amb la seva funció de reconeixement molecular [8]. En una altra contribució rellevant, es van combinar dades de SAXS i velocitats de relaxació de RMN per proporcionar un model complet (estructural i dinàmic) de la proteïna ribosòmica L12 [9]. L'estudi dels complexos biomolèculars va ser també un dels focus de la seva recerca. En col·laboració amb el professor Romà Tauler (IDAEA-CSIC), va aplicar mètodes quimiomètrics a dades de SAXS per a l'estudi de complexos proteics de molt baixa afinitat [9]. A més, estudis de complexos mitocondrials proteïna-ADN fets en col·laboració amb la doctora Maria Solà (IBMB-CSIC) demostraren l'enorme potencial del SAXS per completar estudis cristal·logràfics d'alta resolució amb dades en solució per a una millor comprensió de la flexibilitat [10,11]. Pel conjunt del seu treball, Pau Bernadó va rebre el primer premi de la Societat Espanyola de Biofísica per a joves investigadors l'any 2010.

A final de 2011, s'incorporà com a investigador (*chargé de recherche de première classe* – CR1) de l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM) al Centre de Biochimie Structurale (CBS) de Montpellier (França). Mitjançant finançament de l'Agence Nationale de la Recherche (ANR), així com un premi ATIP-Avenir, va poder establir el seu propi equip de recerca en el si del CBS, dedicat a l'estudi de l'estructura i la dinàmica de proteïnes altament flexibles.

Un context desfavorable de la recerca a Catalunya i al mateix IRB va impedir la consolidació del grup del doctor Bernadó al nostre país. En conseqüència, va buscar alternatives a l'estranger. El CBS de Montpellier va resultar ser altament atractiu per l'adequació de la seva recerca a les temàtiques del

centre, basades en els estudis estructurals i biofísics de sistemes biològics, amb un bon equilibri entre els aspectes metodològics i la resposta a qüestions biològiques rellevants. A més, el centre està dotat d'una excel·lent infraestructura per a la biologia estructural i la microscòpia de molècula única. La flexibilitat i la transparència del sistema de recerca francès facilitaren la seva incorporació com a investigador permanent.

## Àrees actuals de recerca

Un dels conceptes subjacents en biologia és la necessitat que les proteïnes adoptin una estructura tridimensional ben definida per tal que siguin actives. És el que s'anomena *paradigma d'estructura/funció*. Nombroses evidències, però, han demostrat que la flexibilitat és un aspecte fonamental per al bon funcionament de les proteïnes. El grup de Proteïnes Altament Flexibles del CBS, liderat per Pau Bernadó, té com a objectiu establir relacions entre la mobilitat de les proteïnes i el seu rol biològic. Sistemes amb un elevat grau de mobilitat, com les PID i les proteïnes multidomini, són l'objecte principal de l'estudi del grup. Atesa la seva variabilitat conformacional, la caracterització biofísica d'aquest tipus de biomolècules representa un repte enorme. En el grup s'aborden aquests estudis amb una filosofia integrativa que combina dades experimentals (principalment, la RMN i el SAXS) amb mètodes computacionals avançats. Aquesta estratègia s'aplica per revelar les bases estructurals de processos rellevants, com ara el reconeixement molecular, les interaccions intermoleculares de baixa afinitat, l'al·lostèricisme, la formació d'amiloides, etc.

El grup ha endegat dos projectes relacionats amb les PID. El primer és l'estudi de les formes proteiques implicades en la malaltia de Huntington (MH). Aquest estudi pretén caracteritzar la proteïna huntingtina, que destaca per la presència d'una repetició de l'aminoàcid glutamina que esdevé tòxica quan sobrepassa el llindar de trenta-cinc glutamines consecutives. En aquest projecte es volen estudiar les pertorbacions estructurals que es produeixen en la proteïna quan se sobrepassa el llindar patològic. A més, es vol estudiar el procés d'agregació de la huntingtina amb un especial èmfasi en les espècies oligomèriques solubles, considerades com a citotòxiques, mitjançant l'anàlisi quimiomètrica de dades de SAXS mesurades al llarg de l'agregació. El segon projecte se centra en el paper en la traducció del senyal del fragment terminal desordenat dels receptors aco-

blats a la proteïna G (GPCR, de l'anglès *G protein-coupled receptor*). Els receptors de membrana GPCR reconeixen una multitud d'estímuls extracel·lulars i transmeten la informació per tal d'activar respostes biològiques concretes. Aquesta activitat fa que fins al 40 % dels fàrmacs actuals tinguin les GPCR com a diana. L'interès en les GPCR ha estimulat l'estudi estructural d'aquestes proteïnes i existeixen nombroses estructures cristal·logràfiques de membres d'aquesta família. El fragment C-terminal, però, està desordenat en tots els casos i esdevé invisible en els estudis estructurals. Les característiques conformacionals dels fragments, els canvis que s'hi produeixen quan es fosforilen i la interacció amb altres proteïnes per desencadenar la resposta cel·lular són qüestions a les quals es pretén donar resposta amb la combinació de mètodes experimentals i teòrics.

A més, el grup porta a terme nombroses col·laboracions internes i externes en les quals utilitza la seva experiència en RMN, SAXS i mètodes computacionals per resoldre problemes biològics, que inclouen PID implicades en càncer [11] o complexos proteïna-ADN amb papers en la translocació d'àcids nucleics [12, 13]. El grup també s'interessa en l'aplicació de mètodes computacionals amb la capacitat de mostrejar eficientment l'espai conformacional de proteïnes flexibles, com ara els modes normals o els algorismes robòtics, que, en combinació amb dades experimentals, han de permetre obtenir models més acurats que descriguin simultàniament l'estructura i la dinàmica dels sistemes.

Pau Bernadó ha publicat seixanta-dos articles en revistes *peer-reviewed* i diversos capítols de llibre.

## Bibliografia

- [1] BERNADÓ, P.; GARCÍA DE LA TORRE, J.; PONS, M. «Interpretation of  $^{15}\text{N}$  NMR relaxation data of globular proteins using hydrodynamic calculations with HYDRONMR». *J. Biomol. NMR*, núm. 23 (2002), p. 139-150.
- [2] BERNADÓ, P.; AKERUD, T.; GARCÍA DE LA TORRE, J.; AKKE, M.; PONS, M. «Combined use of NMR relaxation measurements and hydrodynamic calculations to study protein association. Evidence for tetramers of low molecular weight protein tyrosine phosphatase in solution». *J. Am. Chem. Soc.*, núm. 125 (2003), p. 916-923.
- [3] BOUVIGNIES, G.; BERNADÓ, P.; MEIER, S.; CHO, K.; GRZESIEK, S.; BRÜSCHWEILER, R.; BLACKLEDGE, M. «Identification of slow correlated motions in proteins using residual dipolar and hydrogen-bond scalar couplings». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 102 (2005), p. 13885-13890.
- [4] BERNADÓ, P.; BLANCHARD, L.; TIMMINS, P.; MARION, D.; RUIGROK, R. W.; BLACKLEDGE, M. «A structural model for unfolded proteins from residual dipolar couplings and small-angle X-ray scattering». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, núm. 102 (2005), p. 17002-17007.
- [5] BERNADÓ, P.; BERTONCINI, C. W.; GRIESINGER, C.; ZWECKSTETTER, M.; BLACKLEDGE, M. «Defining long-range order and local disorder in native alpha-synuclein using residual dipolar couplings». *J. Am. Chem. Soc.*, núm. 127 (2005), p. 17968-17969.
- [6] BERNADÓ, P.; MYLONAS, E.; PETOUKHOV, M. V.; BLACKLEDGE, M.; SVERGUN, D. I. «Structural characterization of flexible proteins using small-angle X-ray scattering». *J. Am. Chem. Soc.*, núm. 129 (2007), p. 5656-5664.
- [7] BERNADÓ, P.; BLACKLEDGE, M. «Structural biology: proteins in dynamic equilibrium». *Nature*, núm. 468 (2010), p. 1046-1048.
- [8] PÉREZ, Y.; GAIRÍ, M.; PONS, M.; BERNADÓ, P. «Structural characterization of the natively unfolded N-terminal domain of human c-Src kinase: insights into the role of phosphorylation of the unique domain». *J. Mol. Biol.*, núm. 391 (2009), p. 136-148.
- [9] BLOBEL, J.; BERNADÓ, P.; SVERGUN, D. I.; TAULER, R.; PONS, M. «Low-resolution structures of transient protein-protein complexes using small-angle X-ray scattering». *J. Am. Chem. Soc.*, núm. 131 (2009), p. 4378-4386.
- [10] RUBIO-COSIALS, A.; SIDOW, J. F.; JIMÉNEZ-MENÉNDEZ, N.; FERNÁNDEZ-MILLÁN, P.; MONTOYA, J.; JACOBS, H. T.; COLL, M.; BERNADÓ, P.; SOLÀ, M. «Human mitochondrial transcription factor A induces a U-turn structure in the light strand promoter». *Nat. Struct. Mol. Biol.*, núm. 18 (2011), p. 1281-1289.
- [11] JIMÉNEZ-MENÉNDEZ, N.; FERNÁNDEZ-MILLÁN, P.; RUBIO-COSIALS, A.; ARNAN, C.; MONTOYA, J.; JACOBS, H. T.; BERNADÓ, P.; COLL, M.; USÓN, I.; SOLÀ, M. «Human mitochondrial mTERF wraps around DNA through a left-handed superhelical tandem repeat». *Nat. Struct. Mol. Biol.*, núm. 17 (2010), p. 891-893.
- [12] BIASIO, A. de; IBÁÑEZ DE OPAKUA, A.; CORDEIRO, T. N.; VILLATE, M.; MERINO, N.; SIBILLE, N.; LELLI, M.; DIERCKX, T.; BERNADÓ, P.; BLANCO, F. J. «p15<sup>PAF</sup> is an intrinsically disordered protein with nonrandom structural preferences at sites of interaction with other proteins». *Biophys. J.*, núm. 106 (2014), p. 865-874.
- [13] PÉREZ-CANO, L.; ELIAHOO, E.; LASKER, K.; WOLFSON, H. J.; GLASER, F.; MANOR, H.; BERNADÓ, P.; FERNÁNDEZ-RECIO, J. «Conformational transitions in human translin enable nucleic acid binding». *Nucleic Acids Res.*, núm. 41 (2013), p. 9956-9966.