



Ludger Johannes
Directeur d'unité, DRE INSERM
ludger.johannes@curie.fr
Tél : +33 1 56 24 63 51

Parmi les grandes classes de macromolécules biologiques, les glucides restent les moins bien compris en ce qui concerne les mécanismes moléculaires de la fonction. Dans l'équipe Trafic endocytaire et administration intracellulaire, nous avons formulé l'hypothèse que les protéines de liaison au glycol (lectines) provenant d'agents pathogènes (toxines Shiga et choléra, virus polyoma comme le SV40, norovirus) ou de cellules (galectines) acquièrent des propriétés actives sur la courbure (c'est-à-dire la capacité d'induire et/ou de détecter la courbure de la membrane) en interaction avec des lipides glycosylés (glycosphingolipides (GSL), éventuellement aussi glycosylphosphatidylinositol (GPI) - protéines ancrées) afin de favoriser leur propre endocytose (pour lectines pathogènes) ou celle des protéines cellulaires (pour galectines) via des fosses endocytiques tubulaires dont sont formés les porteurs dits indépendants de clathrine (voir figure 1 pour galectines). Nous appelons cette hypothèse l'hypothèse GlycoLipid-Lectin (GL-Lectin) pour la construction de puits endocytaires indépendants de la clathrine.

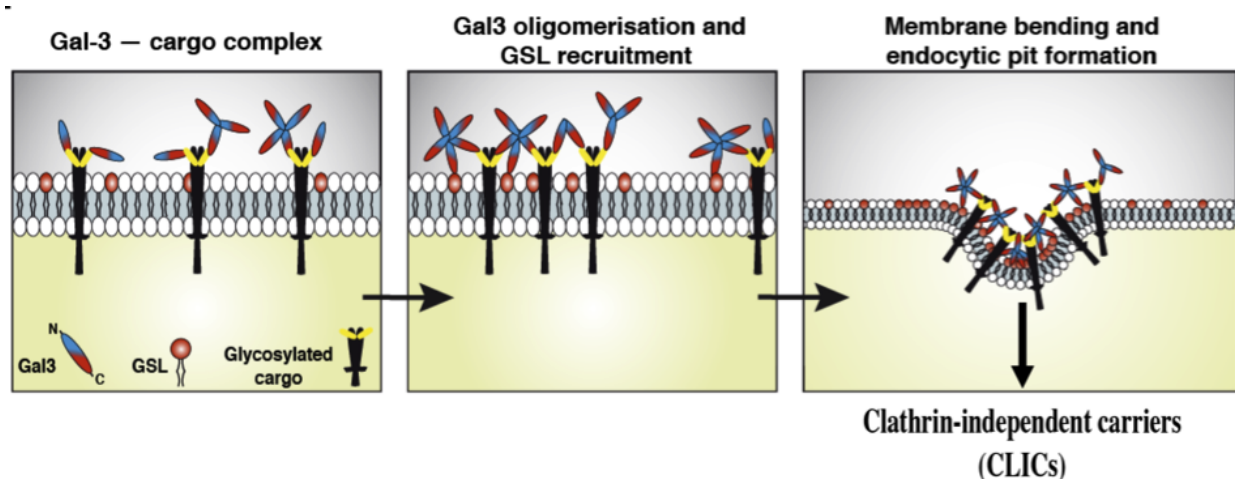


Figure 1 : Hypothèse GL-Lect pour la construction de fosses endocytaires entraînées par la galectine-3 (Gal3) dans la biogénèse de porteurs indépendants de la clathrine (CLIC). Monomeric Gal3 est recruté sur les membranes en se liant aux protéines glycosylées de la cargaison, telles que CD44 et $\alpha 5\beta 1$ -intégrin. Le Gal3 lié à la membrane oligomérisse et acquiert la capacité de liaison des glycosphingolipides fonctionnels (GSL), conférant aux complexes Gal3/GSL des propriétés actives de courbure, c'est-à-dire la capacité à induire et/ou à détecter la courbure de

la membrane. Les cargaisons et les lipides glycosylés sont ensuite regroupés dans des fosses endocytaires tubulaires à partir desquelles des porteurs indépendants de la clathrine (CLIC) sont formés pour l'absorption endocytaire dans les cellules. Tiré de Lakshminarayan et al, 2014, Nature Cell Biology 16 : 595-606.

Le mécanisme GL-Lect peut fonctionner avec diverses protéines cargo glycosylées, ce qui pourrait expliquer comment une petite famille de galectines (12 membres chez l'homme) peut avoir des effets physiologiques et pathologiques très répandus (voir Johannes et al, 2018, J Cell Sci 131 : jcs208884 pour une revue). Nous analysons maintenant comment la dynamique de l'actine corticale contribue à la formation de grappes de complexes GSL-lectine sur les membranes actives, facilitant ainsi la nucléation des tubules endocytaires en exploitant la force de fluctuation de la membrane et les mécanismes de condensation qui n'avaient pas été liés à l'endocytose auparavant. De plus, nous identifions les moyens par lesquels le mécanisme GL-Lect est contrôlé de façon aiguë par la signalisation des facteurs de croissance. Enfin, nous étudions comment la construction du domaine GL-Lect à la membrane plasmique programme la distribution intracellulaire des molécules de cargaison, notamment par la voie de transport rétrograde, exploitant ainsi la capacité de sécrétion polarisée de l'appareil de Golgi pour la distribution des protéines de cargaison aux domaines spécialisés de la membrane plasmique dans les cellules en migration (bord d'attaque), les cellules épithéliales (tri apicobasal et transcytosis), les lymphocytes (synapse immunologique), les cellules épithéliales. Ces études sont réalisées à l'aide d'une combinaison d'approches biologiques cellulaires (microscopie en feuille légère à réseau), biochimiques (purification et reconstitution des protéines membranaires, glycosphingolipidomique), chimiques (synthèse des glycosphingolipides, criblage de petites molécules) et structurelles (cryo-EM) des systèmes modèles à membranes, cellules et organismes vivants.

Nous avons également entrepris d'exploiter la spécificité de la reconnaissance des glucides et le potentiel mécanique membranaire résultant du regroupement oligomérique de glycolipides par lectine pour le développement de stratégies thérapeutiques innovantes dans le traitement du cancer. En collaboration avec le professeur Eric Tartour (U970 INSERM), nous avons notamment identifié la sous-unité B faiblement immunogène non toxique de la toxine Shiga (STxB) comme outil d'administration pour canaliser les peptides antigéniques des tumeurs de pathogènes dans les voies de présentation des cellules dendritiques limitées aux classes I et II du CMH (figure 2).

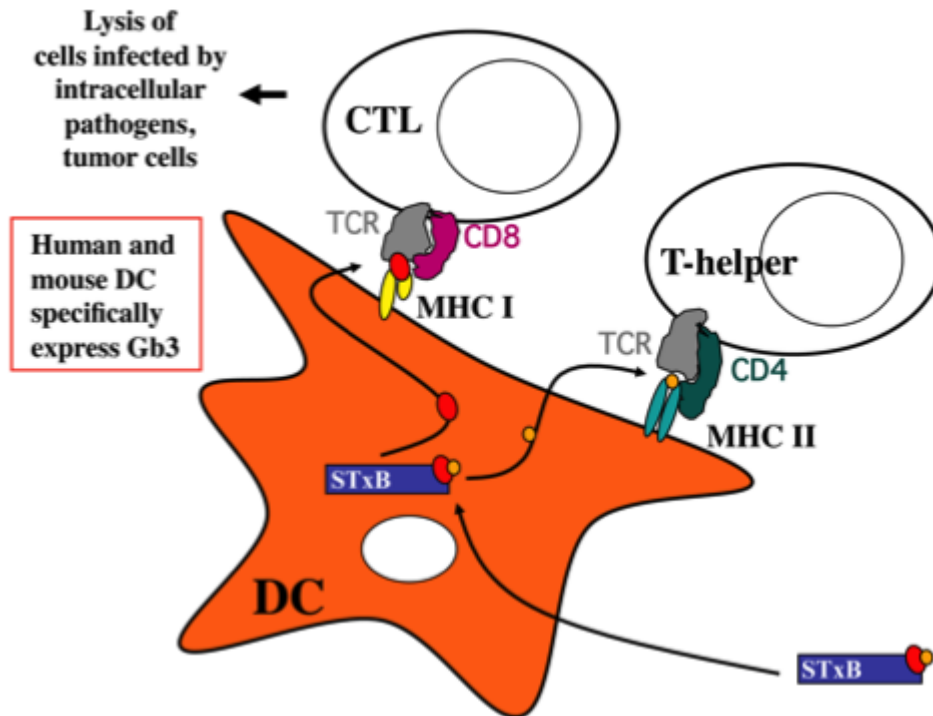


Figure 2 : La sous-unité B de la toxine Shiga (STxB ; représentée par une barre bleue) délivre des peptides antigéniques (représentés par des cercles rouges et jaunes sur STxB) dans les voies de présentation des cellules dendritiques (CD) de classe I et II limitées au CMH. Il a en effet été démontré que le STxB ajouté par voie exogène pénètre dans le cytosol (pour la présentation du CMH I) et dans les endosomes/lysosomes tardifs (pour la présentation du CMH II) de ces cellules. La stimulation d'une réponse lymphocytaire T CD8+ cytotoxique permet l'élimination des cellules tumorales ou pathogènes.

Le STxB se lie au GSL Gb3, qui est exprimé par des cellules dendritiques (DC) de différentes origines, y compris humaines. Lorsqu'il est associé à des antigènes tumoraux, le STxB induit des réponses thérapeutiques antitumorales chez divers modèles de souris, y compris des carcinomes muqueux de la tête et du cou. Nous utilisons maintenant des méthodes chimiques pour optimiser le support STxB pour diverses applications biomédicales en immunothérapie et au-delà. 6 familles de brevets ont été déposées sur la technologie STxB, dont 5 ont déjà été délivrées. Un projet de création d'une nouvelle entreprise est actuellement en cours pour introduire la technologie STxB dans les cliniques.

Un autre axe de recherche vise à découvrir des pistes moléculaires de petite taille pour le développement de stratégies d'intervention contre les toxines protéiques telles que la toxine Shiga et la ricine, contre lesquelles aucun traitement spécifique n'existe à ce jour. En collaboration avec Daniel Gillet du CEA, nous développons 2 composés à succès qui protègent les cellules et les animaux contre ces toxines, et dont les cibles intracellulaires pourraient déjà être identifiées.



Trafic endocytaire et ciblage intracellulaire UMR3666/U1143 - Chimie & Biologie de la Cellule

Biosketch

Ludger Johannes (PhD) est directeur de recherche (DRE) à l'INSERM. Depuis le début de ses études de premier cycle en biochimie en 1987, il est membre de la Studienstiftung des Deutschen Volkes (organisation allemande des surdoués universitaires), et depuis 1993 du Fonds Boehringer Ingelheim. Entre 2001 et 2013, il a dirigé le groupe Trafic, signalisation et livraison du département de biologie cellulaire (UMR144 CNRS) de l'Institut Curie. Depuis janvier 2014, il dirige l'unité de biologie chimique des membranes et de délivrance thérapeutique (U1143 INSERM - UMR3666 CNRS). Ses recherches visent à établir les concepts fondamentaux de l'endocytose et du trafic intracellulaire. Le groupe de Johannes a apporté deux contributions majeures dans ce contexte : la découverte d'une interface de trafic membranaire entre les endosomes précoces et l'appareil de Golgi, et la démonstration que la réorganisation dynamique des glycosphingolipides induite par les protéines joue un rôle moteur dans l'invagination par membrane de l'endocytose sans clathrine. Ces études sont bien citées et ont été publiées dans plusieurs revues de haut rang, dont Cell, Nature, Nature Cell Biology, Developmental Cell et The Journal of Cell Biology. Il vise également à exploiter ces découvertes dans la recherche fondamentale en biologie membranaire pour le développement de stratégies novatrices de traitement du cancer. Ses études de base lui ont permis de valider la sous-unité B de la toxine Shiga (STxB) en tant que « pilote » pour l'administration de composés thérapeutiques à des emplacements intracellulaires précis de cellules dendritiques et tumorales (10 familles de brevets, dont 5 sont délivrés aux Etats-Unis, en Europe et dans d'autres pays). Ces résultats sont à la base d'un programme de recherche translationnelle sur la délivrance intracellulaire à l'Institut Curie et de la création d'entreprises de biotechnologie. Ludger Johannes est membre du comité de rédaction de plusieurs revues internationales (dont PLoS One et Traffic), et est membre de l'EMBO depuis 2012. Son groupe est membre de LabEx CeTisPhysBio, et il détient actuellement une bourse senior du CER (2014-2019).

Key publications

Johannes L, Pezeshkian W, Ipsen JH, Shillcock J (2018) Clustering on membranes - Fluctuations and more. **Trends Cell Biol** 28: 405-415

8 Citations (on March 21, 2019)

Pezeshkian W, Gao H, Arumugam S, Becken U, Bassereau P, Florent JC, Ipsen* JH, Johannes* L, Shillcock* J (2017) Mechanism of Shiga toxin clustering on membranes. **ACS Nano** 11: 314-324 (& co-first authors, # authors from Johannes group, * principal investigators and corresponding authors)

Comments:

<http://www.healthcanal.com/infections/76071-forces-at-play-a-new-infection-route-for-bacteria.ht>



Trafic endocytique et ciblage intracellulaire UMR3666/U1143 - Chimie & Biologie de la Cellule

ml 29 Citations (on March 21, 2019)

Shafaq-Zadah M, Gomes-Santos CS, Bardin S, Maiuri P, Maurin M, Iranzo J, Gautreau A, Lamaze C, Caswell P, Goud B, Johannes L (2016) Persistent cell migration and adhesion rely on retrograde transport of beta1 integrin. **Nat Cell Biol** 18: 54-64

Comments:

F1000Prime Recommended

44 Citations (on March 21, 2019)

Bhatia# D, Arumugam# S, Nasilowski M, Joshi H, Wunder# C, Chambon# V, (...), Johannes* L, Dubertret* B, Krishnan* Y (2016) Quantum dot-loaded monofunctionalized DNA Icosahedra for single particle tracking of endocytic pathways. **Nat Nanotechnol** 11: 1112-1119 (* corresponding authors and principal investigators; # authors from Johannes team)

Comments:

Nature Biotechnology, 2016, Vol. 34, number 10, page 1036

<http://www.hfsp.org/frontier-science/awardees-articles/magic-bullet-dna-wrap-long-duration-imaging>

60 Citations (on March 21, 2019)

Renard H-F, Simunovic M, Lemièrre J, Boucrot E, Garcia-Castillo MD, Arumugam S, Chambon V, Lamaze C, Wunder C, Kenworthy AK, Schmidt AA, McMahon H, Sykes C, Bassereau P, Johannes L (2015) Endophilin-A2 functions in membrane scission in clathrin-independent endocytosis. **Nature** 517: 493-496

Comments:

Nature News and Views: Haucke V, 2015, **Nature** 517: 446-447

Nat Rev Mol Cell Biol, published online 15 January 2015; 16(2): 68

F1000Prime Recommended



Trafic endocytique et ciblage intracellulaire UMR3666/U1143 - Chimie & Biologie de la Cellule

174 Citations (on March 21, 2019)

Johannes L, Parton RG, Bassereau P, and Mayor S (2015) Building endocytic pits without clathrin. **Nat Rev Mol Cell Biol** 16: 311-321

103 Citations (on March 21, 2019)

Lakshminarayan R, Wunder C, Becken U, Howes MT, Benzing C, Arumugam S, Sales S, Ariotti N, Chambon V, Lamaze C, Loew D, Shevchenko A, Gaus K, Parton RG, Johannes L (2014) Galectin-3 drives glycosphingolipid-dependent biogenesis of clathrin-independent carriers. **Nat Cell Biol** 16: 595-606

Comments:

Nat Cell Biol, June 2014, Volume 16 No 6 pp506-507

Nat Rev Mol Cell Biol, published online 11 June 2014

Science Editor's Choice 2014, VOL 344, ISSUE 6188, PAGE 1129

118 Citations (on March 21, 2019)

Römer W, Pontani LL, Sorre B, Rentero C, Berland L, Chambon V, Lamaze C, Bassereau P, Sykes C, Gaus K, Johannes L (2010) Actin dynamics drive membrane reorganization and scission in clathrin-independent endocytosis. **Cell** 140: 540-553

Comments:

Cell Video abstract at <http://www.youtube.com/watch?v=SNWMPckBU0>

Faculty of 1000 Biology, category must read

184 Citations (on March 21, 2019)

Stechmann# B, Bai# SK, Gobbo E, Lopez R, Merer G, Pinchard S, Panigai L, Tenza D, Raposo G, Beaumelle B, Sauvaire D, Gillet* D, Johannes* L, Barbier J (2010) Inhibition of retrograde transport protects mice from lethal ricin challenges. **Cell** 141: 231-242 (* corresponding authors,



Trafic endocytique et ciblage intracellulaire UMR3666/U1143 - Chimie & Biologie de la Cellule

authors from Johannes team)

Comments:

Seaman and Peden, 2010, Cell 141: 222-224

Nature 2010, Vol 464, page 1106

Science editor's choice Volume 328, Number 5981, Issue of 21 May 2010

209 Citations (on March 21, 2019)

Ewers H, Römer W, (...), Helenius A, Johannes L (2010) GM1 structure determines SV40-induced membrane invagination and infection. **Nat Cell Biol** 12: 11-18

Comments:

Nat Rev Mol Cell Biol 2010 Vol 8, pp 87

286 Citations (on March 21, 2019)

Römer W, Berland L, Chambon V, Gaus K, (...), Lamaze C, Raposo G, Steinem C, Sens P, Bassereau P, Johannes L (2007) Shiga toxin induces tubular membrane invaginations for its uptake into cells. **Nature** 450: 670-675

Comments:

Nat Rev Mol Cell Biol 2008 Vol 9, pp 2

Nat Rev Microbiol 2008 Vol 6, pp 92

Faculty of 1000 Biology, category must read

451 Citations (on March 21, 2019)

Mallard F, Tang BL, Galli T, Tenza D, Saint-Pol A, Yue X, Antony C, Hong WJ, Goud B, Johannes L (2002) Early/recycling endosomes-to-TGN transport involves two SNARE complexes and a Rab6 isoform. **J Cell Biol** 156: 653-664

511 Citations (on March 21, 2019)

Publications clés

Année de publication : 2019

François Legoux, Déborah Bellet, Celine Daviaud, Yara El Morr, Aurelie Darbois, Kristina Niort, Emanuele Procopio, Marion Salou, Jules Gilet, Bernhard Ryffel, Aurélie Balvay, Anne Foussier, Manal Sarkis, Ahmed El Marjou, Frederic Schmidt, Sylvie Rabot, Olivier Lantz (2019 Aug 31)

Microbial metabolites control the thymic development of mucosal-associated invariant T cells.

Science (New York, N.Y.) : [DOI : eaaw2719](#)

Année de publication : 2017

Weria Pezeshkian, Haifei Gao, Senthil Arumugam, Ulrike Becken, Patricia Bassereau, Jean-Claude Florent, John Hjort Ipsen, Ludger Johannes, Julian C Shillcock (2017 Jan 24)

Mechanism of Shiga Toxin Clustering on Membranes

ACS Nano : 11 : 314-324 : [DOI : DOI: 10.1021/acsnano.6b05706](#)

Année de publication : 2016

Daniela Chmiest, Nanaocha Sharma, Natacha Zanin, Christine Viaris de Lesegno, Massiullah Shafaq-Zadah, Vonick Sibut, Florent Dingli, Philippe Hupé, Stephan Wilmes, Jacob Piehler, Damarys Loew, Ludger Johannes, Gideon Schreiber, Christophe Lamaze (2016 Dec 6)

Spatiotemporal control of interferon-induced JAK/STAT signalling and gene transcription by the retromer complex.

Nature communications : 13476 : [DOI : 10.1038/ncomms13476](#)

Mijo Simunovic, Emma Evergren, Ivan Golushko, Coline Prévost, Henri-François Renard, Ludger Johannes, Harvey T McMahon, Vladimir Lorman, Gregory A Voth, Patricia Bassereau (2016 Oct 4)

How curvature-generating proteins build scaffolds on membrane nanotubes.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America : 113 : [DOI : 10.1073/pnas.1606943113](https://doi.org/10.1073/pnas.1606943113)

Cédric M Blouin, Yannick Hamon, Pauline Gonnord, Cédric Boularan, Jérémy Kagan, Christine Viaris de Lesegno, Richard Ruez, Sébastien Mailfert, Nicolas Bertaux, Damarys Loew, Christian Wunder, Ludger Johannes, Guillaume Vogt, Francesc-Xabier Contreras, Didier Marguet, Jean-Laurent Casanova, Céline Galès, Hai-Tao He, Christophe Lamaze (2016 Aug 9)

Glycosylation-Dependent IFN- γ R Partitioning in Lipid and Actin Nanodomains Is Critical for JAK Activation.

Cell : 920-34 : [DOI : 10.1016/j.cell.2016.07.003](https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.07.003)

Shafaq-Zadah M, Gomes-Santos C, Bardin S, Maiuri P, Maurin M, Iranzo J, Gautreau A, Lamaze C, Caswell P, Goud B, Johannes L (2016 Jan 18)

Persistent cell migration and adhesion rely on retrograde transport of $\beta(1)$ integrin

Nature Cell Biology : 18 : 54-64 : [DOI : 10.1038/ncb3287](https://doi.org/10.1038/ncb3287)