

Al comité de evaluación en la Convocatoria a Jefes de Grupo 2016

IBR-CONICET, Rosario, Argentina

Por medio de la presente quiero expresar mi motivación para liderar un grupo de investigación independiente en el IBR. Así, presento adjunto un proyecto científico para el estudio de “Factores de virulencia micobacterianos con roles duales en el metabolismo celular y en la interacción con el hospedero” empleando la cristalografía de proteínas por difracción de rayos X como enfoque metodológico preponderante.

Con gran interés por las ciencias biológicas y la física, ingresé en la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (FBioyF) de la UNR, donde obtuve el grado de Licenciada en Biotecnología en el año 2005. Comencé a interactuar con investigadores en el IBR al realizar mi tesina de licenciatura bajo la dirección de la Dra. Silvia Arranz, en el Área Biología del Desarrollo del instituto. Posteriormente, ingresé al grupo del Dr. Alejandro Vila en el Área Biofísica del IBR, donde realicé mi tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas (2005-2010), empleando una combinación de técnicas bioquímicas y espectroscópicas para el estudio de enzimas bacterianas involucradas en la resistencia a antibióticos. En el marco de estos trabajos tuve acceso a cursos de formación y tecnología de punta en el área de la RMN. Sin embargo, a pesar de múltiples esfuerzos realizados en la región en pos del desarrollo de la biología estructural, la cristalografía de proteínas por difracción de rayos X no resultaba entonces una técnica accesible, debido en gran medida a la falta de una masa crítica de recursos y de personal formado. Por esto, decidí especializarme en dicha metodología en el exterior del país, con el deseo de retornar luego a Argentina y contribuir a las iniciativas en el campo de la biología estructural.

En 2011 ingresé en la Unidad de Microbiología Estructural del Instituto Pasteur en París, dirigida por el Dr. Pedro Alzari. En este contexto tuve la oportunidad de interactuar a diario con expertos en cristalografía de proteínas reconocidos a nivel internacional, de asistir a cursos y conferencias dictados por científicos dedicados al desarrollo de la metodología, y de acceder con regularidad a algunas de las mejores líneas de luz sincrotrón disponibles. Aplicando la cristalografía de proteínas al estudio de vías de señalización en Actinobacteria he adquirido experiencia y autonomía en todas las etapas del proceso que conduce desde la génesis de un cristal de proteína hasta depositar una estructura cristalográfica en el Protein Data Bank. Parte del trabajo científico realizado hasta fines de 2015 se ha visto reflejado en tres artículos publicados en revistas internacionales con referato, dos manuscritos han sido recientemente enviados para su publicación y se encuentran en revisión, y otros tres artículos

(dos de los cuales incluyen datos claves para el proyecto científico presentado) se encuentran en etapas finales de redacción. En estos estudios he logrado obtener información importante acerca de las bases estructurales de la actividad y la regulación de quinasas de proteínas bacterianas, derivando hipótesis que han dado lugar a investigaciones genéticas y microbiológicas, algunas de las cuales se encuentran aún en curso. Actualmente me encuentro realizando una segunda estadía postdoctoral en el Laboratorio de Biología Molecular y Estructural del Instituto Pasteur de Montevideo, dirigido por el Dr. Alejandro Buschiazzi, donde empleo la cristalografía de proteínas como técnica fundamental para el estudio de una vía de transducción de señales involucrada en la virulencia de *Leptospira*.

Por último, quisiera mencionar mi participación en la formación de recursos humanos (co-dirección de una Tesina de Licenciatura y dirección de un Tesis de Maestría) y la gestión independiente de colaboraciones con los grupos de la Dra. Nora Calcaterra, el Dr. Olivier Danot y el Dr. Mikel Valle, detallados en el CV y en el proyecto anexo. En relación a esto, considero que la construcción de un laboratorio de biología estructural moderno, más allá del foco metodológico, necesita contemplar el trabajo interdisciplinario y ser capaz de interactuar con otros abordajes y concepciones que se desarrollan en las ciencias biológicas, con el fin último de dar respuesta a interrogantes biológicos relevantes. Por esto, el proyecto científico propuesto, que implica el estudio de vías de señalización en *M. tuberculosis* con el objetivo de alcanzar un mayor conocimiento de la fisiología bacteriana y, eventualmente, proveer información para el desarrollo de agentes terapéuticos con modos de acción no convencionales, involucra la estrecha colaboración con tres grupos de investigación consolidados en la región. En particular en el IBR, hemos acordado trabajar en colaboración con el grupo del Dr. Hugo Gramajo en la realización de ensayos en *M. tuberculosis*, que podrán ser llevados a cabo gracias a la próxima puesta en funcionamiento de un laboratorio de nivel de bioseguridad P3.

Con sustento en lo expuesto, quiero expresar mi deseo de volver a formar parte del IBR, en esta ocasión como investigadora independiente. El proyecto científico presentado atañe a un objeto de estudio con impacto local e internacional, la temática se inserta naturalmente entre las líneas tradicionalmente abordadas por el IBR, y el plan de trabajo asociado encierra una propuesta tecnológica coherente con esfuerzos locales. Así, me propongo postular en el curso de 2016 a la Carrera del Investigador Científico en CONICET y desde entonces solicitar subsidios para la realización de las investigaciones planteadas. También me comprometo a dedicarme a la formación de estudiantes con vocación por la biología estructural. Finalmente, me permito expresar que volver a formar parte del IBR me brindará la satisfacción de trabajar en el entorno que tan decididamente ha contribuido a mi propia formación.

Los saludo atentamente,



María Natalia Lisa

## LISTA DE INVESTIGADORES QUE PUEDEN PROVEER REFERENCIAS:

**Pedro Alzari:** Institut Pasteur, Unité de Microbiologie Structurale, Paris, France. E-mail: [alzari@pasteur.fr](mailto:alzari@pasteur.fr)

**Alejandro Buschiazzo:** Unidad de Cristalografía de Proteínas, Instituto Pasteur de Montevideo, Montevideo, Uruguay. E-mail: [alebus@pasteur.edu.uy](mailto:alebus@pasteur.edu.uy)

**Ricardo Biondi:** Research Group PhosphoSites, Medizinische Klinik 1, Universitätsklinikum Frankfurt, Frankfurt, Deutschland. E-mail: [Biondi@med.uni-frankfurt.de](mailto:Biondi@med.uni-frankfurt.de)

**Ahmed Haouz:** Institut Pasteur, Plate-Forme Cristallographie, Paris, France. E-mail: [ahmed.haouz@pasteur.fr](mailto:ahmed.haouz@pasteur.fr)

**William Shepard:** PROXIMA 2, Synchrotron SOLEIL, France. E-mail: [william.shepard@synchrotron-soleil.fr](mailto:william.shepard@synchrotron-soleil.fr)

**Alejandro Vila:** Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario, CONICET-UNR, Rosario, Argentina. E-mail: [vila@ibr-conicet.gov.ar](mailto:vila@ibr-conicet.gov.ar)

## MARÍA NATALIA LISA - CURRICULUM VITAE

### PERSONAL DATA

*Date and place of birth:* April 7<sup>th</sup>, 1981, Rosario, Argentina.

*Work address:* Laboratory of Molecular & Structural Microbiology, Institut Pasteur de Montevideo, Mataojo 2020, Montevideo 11400, URUGUAY. Phone: +598 25220910 int. 181. Fax: +598 25224185

*E-mail:* nlisa@pasteur.edu.uy

### EDUCATION

- Since February 2016: Post-doctoral stage, under the supervision of Dr. Alejandro Buschiazzo. Laboratory of Molecular & Structural Microbiology. Institut Pasteur de Montevideo. Montevideo, Uruguay.
- February 2011-October 2015: Post-doctoral stage, under the supervision of Dr. Pedro M. Alzari. Unité de Microbiologie Structurale. Institut Pasteur. Paris, France.
- 2005-2010: PhD in Biological Sciences, under the supervision of Dr. Alejandro J. Vila. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario. Rosario, Argentina.
- 1999-2005: B. Sc. degree in Biotechnology. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario. Rosario, Argentina.

### RESEARCH WORK

- Post-doctoral Stage (February 2016- February 2018): “Molecular basis of virulence regulation in *Leptospira*: a structural biology approach to bacterial signaling”. Under the supervision of Dr. Alejandro Buschiazzo. Laboratory of Molecular & Structural Microbiology. Institut Pasteur de Montevideo. Montevideo, Uruguay.
- Post-doctoral Stage (February 2011-October 2015): “Molecular characterization of PknG-GarA mediated signaling pathways in *Mycobacterium tuberculosis*”. Under the supervision of Dr. Pedro M. Alzari. Unité de Microbiologie Structurale. Institut Pasteur. Paris, France.
- Independent Collaboration (2014-2015): “Crystal structure of a novel Signal Transduction ATPase with Numerous Domains”. In collaboration with Dr. Olivier Danot from the Unité de Biologie et Génétique de la Paroi Bactérienne, Institut Pasteur, Paris, France.
- Direction of Master Thesis (2014): “Optimisation de la production d’une glutamate déshydrogénase mycobactérienne en vu de sa caractérisation structurale”. Unité de Microbiologie Structurale, Institut Pasteur- Université Rennes 1. France.
- Participation in the MM4TB Consortium (<http://www.mm4tb.org/>).
- Independent Collaboration (2010-2011): “Understanding the structure-function relationship of the nucleic acid chaperone CNBP”. In collaboration with Dr. Nora B. Calcaterra and Dr. Pablo Armas. IBR – CONICET; Biology Area, Department of Biological Sciences, FBIOyF – UNR. Rosario, Argentina.
- Co-direction of Summer Research Project (6-7/2009): “Role of a conserved His residue in a

metallo- $\beta$ -lactamase". Director: Dr. Alejandro J. Vila. IBR – CONICET; Biophysics Area, Department of Biological Chemistry, FBIOyF – UNR. Rosario, Argentina.

- Co-direction of Undergraduate Thesis for the obtainment of the B. Sc. degree in Biotechnology (2008-2009): "Study of the structural and functional role of the residue Met221 of the metallo- $\beta$ -lactamase GOB-18 from *Elizabethkingia meningoseptica*". Director: Dr. Alejandro J. Vila. IBR – CONICET; Biophysics Area, Department of Biological Chemistry, FBIOyF – UNR. Rosario, Argentina.
- PhD Thesis (2005-2010): "Structural and functional study of the metallo- $\beta$ -lactamase GOB-18 from *Elizabethkingia meningoseptica*" (Mention: *Summa cum laudae*). Under the supervision of Dr. Alejandro J. Vila. Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (IBR - CONICET); Biophysics Area, Department of Biological Chemistry, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario (FBIOyF – UNR). Rosario, Argentina.
- First Degree Thesis (2003-2005): "Study of the transcriptional regulation of intestinal fatty acid binding protein (I-FABP) in zebrafish (*Danio rerio*)" (Mention: *Summa cum laudae*). Under the supervision of Dr. Silvia E. Arranz. IBR – CONICET; Biology Area, Department of Biological Sciences, FBIOyF – UNR. Rosario, Argentina.

#### **PEER-REVIEWED PUBLICATIONS**

- Schulze JO, Saladino G, Busschots K, Neimanis S, Süß E, Odadzic D, Zeuzem S, Hindie V, Herbrand AK, **Lisa MN**, Alzari PM, Gervasio FL and Biondi RM (2016). Tipping the Balance of the Protein Kinase PDK1 Allosteric Regulatory Mechanism by Low-Molecular-Weight Ligands. *Cell Chem Biol*. e-Pub ahead of print, doi: 10.1016/j.chembiol.2016.06.017
- Coluccia A, La Regina G, Barilone N, **Lisa MN**, Brancale A, André-Leroux G, Alzari PM and Silvestri R (2016). Structure-based Virtual Screening to Get New Scaffold Inhibitors of the Ser/Thr Protein Kinase PknB from *Mycobacterium tuberculosis*. *Lett Drug Des Discov*. e-Pub ahead of print, doi: 10.2174/1570180813666160801162204
- Morán-Barrio J\*, **Lisa MN\***, Larrieux N, Drusin SI, Viale AM, Moreno DM, Buschiazzi A and Vila AJ (2016). Crystal Structure of the Metallo- $\beta$ -Lactamase GOB in the Periplasmic Dizinc Form Reveals an Unusual Metal Site. *Antimicrob Agents Chemother*. **60**, 6013-6022. \*Equal contribution.
- **Lisa MN**, Gil M, André-Leroux G, Barilone N, Durán R, Biondi RM and Alzari PM (2015). Molecular Basis of the Activity and the Regulation of the Eukaryotic-like S/T Protein Kinase PknG from *Mycobacterium tuberculosis*. *Structure*. **23**, 1039-1048.
- Challier E, **Lisa MN**, Nerli B, Calcaterra NB and Armas P (2014). Novel high-performance purification protocol of recombinant CNBP suitable for biochemical and biophysical characterization. *Protein Expr Purif*. **93**, 23-31.
- **Lisa MN**, Morán-Barrio J, Guindón MF and Vila AJ (2012). Probing the role of Met221 in the unusual metallo- $\beta$ -lactamase GOB-18. *Inorg Chem*. **51**, 12419-12425.
- Morán-Barrio J\*, **Lisa MN\*** and Vila AJ (2012). *In vivo* impact of Met221 substitution in GOB metallo-beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother*. **56**, 1769-1773. \*Equal contribution.
- **Lisa MN**, Hemmingsen L and Vila AJ (2010). Catalytic role of the metal ion in the metallo- $\beta$ -lactamase GOB. *J Biol Chem* **285**, 4570-4577.

- Morán-Barrio J, González JM, **Lisa MN**, Costello AL, Dal Peraro M, Carloni P, Bennett B, Tierney DL, Limansky AS, Viale AM and Vila AJ. (2007). The metallo- $\beta$ -lactamase GOB is a mono-Zn(II) enzyme with a novel active site. *J Biol Chem* **282**, 18286-18293.

#### **ARTICLES SUBMITTED FOR PUBLICATION**

- **Lisa MN**, Wagner T, Alexandre M, Barilone N, Raynal B,d, Alzari PM and Bellinzoni M. The crystal structure of PknI from *Mycobacterium tuberculosis* does not support a conventional mechanism for protein kinase activity. Submitted to the *Journal of Molecular Biology*.
- Rieck B, Degiacomi G, Zimmermann M, Cascioferro A, Boldrin F, Lazar-Adler NR, Bottrill AR, le Chevalier F, Frigui W, Bellinzoni M, **Lisa MN**, Alzari PM, Nguyen L, Brosch R, Sauer U, Manganelli R and O'Hare H. PknG senses amino acid availability to control metabolism and virulence of *Mycobacterium tuberculosis*. Submitted to *Plos Pathogens*. [Mentioned in the proposed research project.](#)

#### **ARTICLES IN PREPARATION**

- Gil M, Lima A, Rivera B, Urdániz E, Rossello J, Carrión F, Wehenkel A, **Lisa MN**, Cascioferro A, Batthyány C, Brosch R, Alzari PM, Piuri M, Durán R. New substrates of the mycobacterial Ser/Thr kinase PknG identified by a tailored interactomic approach. [Mentioned in the proposed research project.](#)
- **Lisa MN**, Barilone N, Gil M, Graña M, Durán R, Biondi RM and Alzari PM. Absence of a regulatory rubredoxin module in the multidomain actinobacterial S/T protein kinase PknG. [Mentioned in the proposed research project.](#)
- **Lisa MN et al.** Crystal structure of a novel Signal Transduction ATPase with Numerous Domains: multi-crystal anomalous diffraction for SAD phasing. This work was performed in collaboration with Dr. Olivier Danot from the Unité de Biologie et Génétique de la Paroi Bactérienne, Institut Pasteur of Paris.
- **Lisa MN et al.** A common reaction intermediate in the catalytic mechanism of metallo- $\beta$ -lactamases. This work was performed under the direction of Dr. Alejandro J. Vila.

#### **PRESENTATIONS IN MEETINGS (since 2010)**

- **María Natalia Lisa** and Alejandro Buschiazso. "A signal transduction pathway related to virulence regulation in *Leptospira*". 2do encuentro de la Red Uruguaya de Cristalografía. August 29-30, 2016. Montevideo, Uruguay.
- **María Natalia Lisa**, Pedro Alzari and Alejandro Buschiazso. "Signal transduction pathways in pathogenic bacteria" Instruct workshop: Integrative methods in Structural Biology to enhance high impact research in health and disease. February 16-19, 2016. Montevideo, Uruguay.
- **María Natalia Lisa**, Ricardo Biondi and Pedro Alzari. "The protein kinase PknG from *Mycobacterium tuberculosis*: what do we know about mechanism and substrate binding?" Colloque du Groupe Thématique de L'Association Française de Cristallographie. October 7-10, 2014. Grenoble, France.
- **María Natalia Lisa**, Ricardo Biondi and Pedro Alzari. "The protein kinase PknG from *Mycobacterium tuberculosis*: what do we know about mechanism and substrate binding?"

Latin American Summit Meeting IYCR2014 Biological Crystallography and Complementary Methods. September 22-24, 2014. Campinas, Brasil.

- **María Natalia Lisa**, Nathalie Barilone and Pedro Alzari. "PknG mediated signaling pathways in *Mycobacterium tuberculosis*". EMBO Fellows' Meeting. June 13-16, 2013. Heidelberg, Germany.
- **María Natalia Lisa**, Nathalie Barilone and Pedro Alzari. "PknG mediated signaling pathways in *Mycobacterium tuberculosis*". AFC 2013, Colloque de l'Association Française de Cristallographie. July 2-5, 2013. Bordeaux, France.
- **María Natalia Lisa**, Nathalie Barilone and Pedro Alzari. "PknG mediated signaling pathways in *Mycobacterium tuberculosis*". 3<sup>rd</sup> Conference of MycoClub organized under the auspices of the Société Française de Microbiologie (SFM). May 21-22, 2013. Toulouse, France.
- **María Natalia Lisa**, Tristan Wagner, Magdalena Gil, Marco Bellinzoni and Pedro M. Alzari. "PknG mediated signaling pathways in *Mycobacterium tuberculosis*". 4<sup>th</sup> EMBO Meeting. September 22-25, 2012. Nice, France. **Grant winner.**
- **María Natalia Lisa**, Tristan Wagner, Marco Bellinzoni and Pedro M. Alzari. "Structural study on the S/T protein kinase PknG from *Mycobacterium tuberculosis*". Tuberculosis 2012. Biology, Pathogenesis, Intervention strategies. September 11-15, 2012. Institut Pasteur, Paris, France.
- **María Natalia Lisa**, Tristan Wagner, Magdalena Gil, Marco Bellinzoni and Pedro M. Alzari. "Structural study on the S/T protein kinase PknG from *Mycobacterium tuberculosis*". Colloque du Groupe Thématique de L'Association Française de Cristallographie. April 3-6, 2012. Montpellier, France.
- **María Natalia Lisa**, Fátima Fonseca, James Spencer and Alejandro J. Vila. "Anionic reaction intermediates in the hydrolysis of  $\beta$ -lactam substrates by metallo- $\beta$ -lactamases". 11<sup>th</sup>  $\beta$ -Lactamase Meeting. June 10-14, 2011. Leonessa, Italy.
- **María Natalia Lisa**, Fátima Fonseca, James Spencer and Alejandro J. Vila. "A common reaction intermediate in the hydrolysis of  $\beta$ -lactam substrates by metallo- $\beta$ -lactamases: on the road to a pan-inhibitor". XXXIX Annual Meeting of the Argentinean Biophysical Society 2010 – Workshop CeBEM "Structural Biology in Latin America" – 3rd Latin American Protein Society Meeting. October 12-16, 2010. Salta, Salta, Argentina.
- **María Natalia Lisa**, Lars Hemmingsen and Alejandro J. Vila. "Estudio del mecanismo de reacción de la metalo- $\beta$ -lactamasa GOB". Cuarto Workshop de Química Bioinorgánica "Aspectos estructurales y funcionales de sistemas bioinorgánicos estudiados mediante métodos espectroscópicos, de cálculo, y sistemas modelo". March 25-26, 2010. Santa Fe, Santa Fe, Argentina.

#### **ACADEMIC POSITIONS HELD**

- 2006-2010: Undergraduate Laboratory Supervisor, Biophysics Area, Department of Biological Chemistry. FBIOyF – UNR. Rosario, Argentina.
- 2005-2006: Teaching Assistant, Biophysics Area, Department of Biological Chemistry. FBIOyF – UNR. Rosario, Argentina.
- 2001-2002: Teaching Assistant. Biology Area, Department of Biological Sciences, FBIOyF – UNR. Rosario, Argentina.
- 2000-2005: Teaching Assistant. Physics Area, Department of Chemistry-Physics, FBIOyF – UNR. Rosario, Argentina.

### **FELLOWSHIPS**

- 2014–2015: Post-doctoral Fellowship granted by the Agencia Nacional de Investigación e Innovación , Uruguay.
- 2014–2015: Post-doctoral Fellowship granted by the Fondation pour la Recherche Médicale, France.
- 2013: Roux, Howard, Cantarini Post-doctoral Fellowship, Institut Pasteur, Paris.
- 2011-2012: EMBO (European Molecular Biology Organization) Long-Term Fellowship, for a two years post-doctoral stage.
- 2010: Type II PhD Research Fellowships granted by the Argentinean National Scientific Research Council (CONICET).
- 2007-2009: Type I PhD Research Fellowship granted by the Argentinean National Scientific Research Council (CONICET).
- 2005-2007: Fellowship for PhD studies originated from a grant of the Howard Hughes Medical Institute received by Dr. Alejandro J. Vila.

### **AWARDS**

- PhD thesis selected by the Bureau of Science, Technology and Innovation of Santa Fe province, Argentina (2012).

### **LANGUAGES**

- Spanish (native), English (proficient), French (fluent).