

Mucoviscidose : simuler pour mieux soigner

La mucoviscidose est la plus fréquente des maladies rares, touchant principalement les fonctions respiratoires et digestives et affectant en moyenne 1 nouveau né sur 4 500 en France. Cette maladie génétique potentiellement grave est le résultat de mutations affectant la protéine CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator), formant un canal ionique présent dans la membrane de cellules épithéliales de nombreux organes. Comprendre les dysfonctions de cette protéine sous l'effet de mutations et envisager des thérapies ciblées pour les différents types de mutations nécessite de résoudre des questions fondamentales concernant sa structure et sa dynamique.

Des chercheurs de l'équipe Bioinformatique et Biophysique de l'IMPMC mettent en perspective les travaux fondamentaux qu'ils ont réalisés dans ce domaine par rapport à l'ensemble des données disponibles, y compris celles, très récentes, de cryo-microscopie électronique. Les différentes approches, combinées dans une démarche intégrative, permettent de comprendre l'évolution spécifique du canal ionique CFTR dans le cadre de la très grande famille de protéines transmembranaires que sont les transporteurs ABC et de proposer des éléments de réflexion pour rationaliser la recherche de modulateurs spécifiques de la structure tridimensionnelle de cette protéine.

CFTR fait partie d'une vaste famille de protéines membranaires, les transporteurs ABC, connus pour leurs activités de transport de substrats au travers des membranes. Elle s'en distingue cependant par son activité de canal ionique, perméable aux ions chlorures et bicarbonates. CFTR est une grande protéine multidomaines (1 480 acides aminés), intégrant comme tout transporteur ABC, deux domaines membranaires et deux domaines cytosoliques de liaison de l'ATP (molécule dont l'hydrolyse fournit l'énergie nécessaire au mécanisme de transport), mais elle possède également une région intrinsèquement désordonnée, cible de multiples phosphorylations qui viennent réguler l'activité du canal. Cette dynamique conformationnelle, combinée à de très faibles solubilité et stabilité, a fortement ralenti la caractérisation expérimentale de sa structure. En l'absence de ces informations, notre équipe a pu construire des modèles de structures 3D cohérents de l'ensemble des domaines stables de CFTR (Mornon*, Hoffmann** et coll. 2015), puis de la totalité de la protéine, intégrant ses domaines flexibles (Hoffmann et coll (a), en préparation). Ces études se sont appuyées sur des méthodologies d'analyse de séquences (méthode Hydrophobic Cluster Analysis (HCA), développée à l'IMPMC), qui ont permis de bâtir un modèle solide à partir de moules très éloignés d'un point de vue évolutif (transporteurs ABC), ainsi que sur des simulations de dynamique moléculaire, qui ont conduit à comprendre l'évolution du "moule" ABC vers une fonction spécifique de canal et à décrire différentes conformations (ouvertes et fermées) de ce canal. En particulier,

nous avons pu mettre en évidence, sur le modèle de la forme ouverte du canal, des canaux latéraux localisés sous la membrane, au niveau d'excroissances intracellulaires des domaines membranaires, qui permettent l'accès des ions au pore central, intramembranaire, de la protéine et qui créent ainsi un chemin de conduction continu des anions, entre l'intérieur et l'extérieur des cellules. Ces ouvertures peuvent être créées grâce à une flexibilité remarquable d'un des deux domaines de liaison de l'ATP (NBD1), dont les changements de conformation sont transmis aux hélices membranaires. Ces prédictions ont été validées par des tests fonctionnels et par de récentes structures expérimentales obtenues par cryo-microscopie électronique. La confrontation de ces dernières données avec nos modèles de structure 3D permet aujourd'hui de montrer que la transition entre les différents conformères de la protéine (formes ouvertes et fermées du canal) serait réalisée par le mouvement de deux grands blocs rigides propres aux domaines membranaires (Hoffmann et coll (b), en préparation). L'espace conformationnel de cette protéine complexe est actuellement en cours d'exploration, en utilisant des techniques avancées de dynamique moléculaire (coll. F. Pietrucci équipe PHYSIX de l'IMPMC).

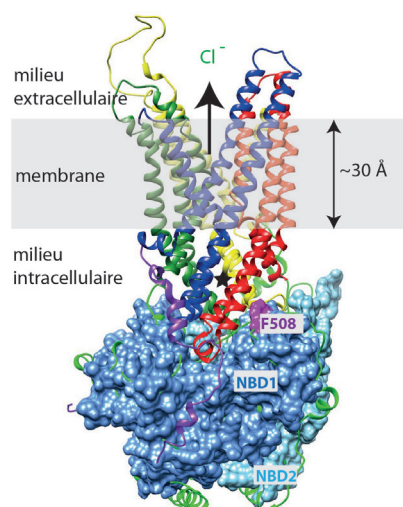


Figure 1
Représentation schématique du modèle de la structure 3D de CFTR humain complet (forme ouverte obtenue après dynamique moléculaire), illustrant la localisation d'un canal d'accès latéral (étoile) au niveau intracellulaire, ainsi que la position de l'acide aminé phénylalanine F508 (coloré en rose), à l'interface entre les domaines intracellulaires (surfaces) et les domaines membranaires (rubans bleus, verts, jaunes et rouges) insérés dans la membrane (rectangle gris).

De manière globale, l'ensemble des études théoriques qui ont été réalisées sur CFTR a conduit à élucider à l'échelle atomique différents aspects de la structure mais aussi de la stabilité et de la dynamique de cette protéine complexe. Ces informations se révèlent précieuses pour comprendre l'impact de mutations, impliquant parfois des effets à longue distance, ainsi que pour concevoir des stratégies thérapeutiques adaptées à chaque type de mutations, en recherchant des petites molécules qui viennent agir sur des sites de la protéine pour en moduler la structure et/ou les fonctions. L'enjeu est important, en particulier pour des mutations de classe II, conduisant à des protéines mal repliées et prématurément dégradées, pour lesquelles il n'existe pas encore de traitements satisfaisants. Parmi celles-ci, la mutation la plus fréquente, une délétion de l'acide aminé phénylalanine 508 dans le NBD1, affecte plus de 70% des patients. Il faut dans le cas de cette mutation corriger plusieurs défauts (stabilité intrinsèque du domaine NBD1 et assemblage de ce domaine avec les autres domaines de la protéine), sans toutefois affecter la dynamique de la protéine, essentielle à ses fonctions. Les études théoriques, couplées aux études expérimentales, sont donc en premier lieu utiles pour guider de façon rationnelle la recherche de modulateurs spécifiques de la protéine CFTR, et évaluer leurs effets à la fois sur la correction des défauts et le maintien des fonctions.

Références

Molecular modelling and molecular dynamics of CFTR Callebaut, I; Hoffmann, B; Lehn, P; Mornon, JP *Cellular and Molecular life Science* 2017 74, 3-22
Full-open and closed CFTR channels, with lateral tunnels from the cytoplasm and an alternative position of the F508 region, as revealed by molecular dynamics. Mornon J-P*, Hoffmann B*, Jonic S, Lehn P, Callebaut I
Cellular and Molecular life Science 2015, 72: 1377-1403.

Contact

Isabelle Callebaut : Isabelle.Callebaut@impmc.upmc.fr