

Monsieur Lilian OLIVIERI soutiendra sa thèse de doctorat en Bioinformatique, intitulée : " Recherche et caractérisation par dynamique moléculaire d'états intermédiaires pour la complexation entre la protéine FKBP12 et des ligands de haute affinité. ", sous la direction Monsieur Bernard OFFMANN et le co-encadrement de Monsieur Fabrice GARDEBIEN le :

Mercredi 4 juillet 2012
A partir de 10h00 (Heure de Métropole)
Institut National de la Transfusion Sanguine (INTS)
Paris

Composition du jury :

- Monsieur Fabrice GARDEBIEN, Maître de Conférences, Université de La Réunion
- Monsieur Jean-Yves LE QUESTEL, Professeur, Université de Nantes
- Madame Thérèse MALLIAVIN, Chargée de Recherche, H.D.R., Institut Pasteur
- Monsieur Bernard OFFMANN, Professeur, Université de Nantes
- Monsieur Roland STOTE, Chargé de Recherche, H.D.R., Université de Strasbourg
- Monsieur Gérard VERGOTEN, Professeur, Université de Lille 1

Résumé:

FKBP12 est une protéine ubiquitaire, principalement cytosolique, qui est au carrefour de plusieurs voies signalétiques. Son abondance naturelle dans les tissus nerveux peut être reliée à son implication dans les maladies neurodégénératives telles que les maladies d'Alzheimer et de Parkinson ainsi que dans les neuropathies périphériques et diabétiques ou dans des blessures des cordons spinaux. De nombreuses études ont montré que des molécules exogènes (ligands) venant se fixer sur cette protéine permettent la régénération d'un grand nombre de connexions neuronales endommagées. Une difficulté provient cependant du fait que, pour un ligand donné, il n'existe aucune relation claire entre sa structure et sa capacité de liaison à FKBP12. Notre étude vise ainsi à rationaliser la relation entre la structure d'un ligand et son affinité pour cette protéine. Deux complexes modèles, formés entre FKBP12 et chacun des deux ligands **8** et **308**, ont été utilisés. Ces deux ligands de haute affinité ont des structures différentes. Notre travail s'est appuyé sur des simulations de dynamique moléculaire (DM) pour caractériser l'état intermédiaire qui est formé transitoirement lors du processus de complexation entre la protéine et son ligand. Dans cet état particulier, l'identification des interactions naissantes entre les partenaires a permis (*i*) de comprendre l'implication des différentes parties du ligand dans le mécanisme de reconnaissance avec FKBP12 et (*ii*) de rationaliser les affinités de certains ligands apparentés.

Une étape importante, préalable à la recherche d'un EI, a été de paramétrer les deux ligands pour le champ de force CHARMM22 utilisé pour calculer l'énergie potentielle du système. Les paramètres déterminés pour chaque ligand ont été validés en vérifiant leur capacité à reproduire les caractéristiques structurales des ligands optimisés par des calculs de chimie quantique. Afin de localiser un EI, un protocole utilisant différentes techniques de simulation DM a été développé. Une première étape de validation a consisté à reproduire précisément les caractéristiques des structures cristallographiques des complexes FKBP12-**8** et FKBP12-**308**

en combinant la dynamique moléculaire de Langevin (LD) et le modèle analytique EEF1 pour les calculs de l'énergie libre de solvation. Dans la deuxième étape menée à partir de chacun des complexes, des simulations LD/EEF1 utilisant une force externe ont permis d'éloigner le ligand de la protéine (méthode *Biased Molecular Dynamics*). Lors de ces décomplexations, des EI ont pu être caractérisés puis affinés à l'aide de simulations utilisant un modèle de solvation explicite (*Stochastic Boundary Molecular Dynamics*).

L'utilisation de ce protocole sur les complexes FKBP12-**8** et FKBP12-**308** a permis de déterminer deux EI qui montrent des caractéristiques communes, faisant ressortir un modèle de EI. Notre modèle révèle que l'affinité élevée du ligand provient du nombre et du type de contacts réalisés entre les parties périphériques du ligand et FKBP12 dans EI (les ligands **8** et **308** étant chacun formé d'une partie centrale à laquelle sont rattachées trois parties périphériques). Alors que ces parties n'interagissent que très peu avec la protéine dans le complexe natif, comparé à la partie centrale du ligand, dans EI la mobilité des parties périphériques (les parties les plus variables entre ligands) leur permet de former un nombre élevé de contacts interchangeables avec FKBP12. En plus de diminuer l'enthalpie du système, ces contacts interchangeables permettent de conserver, au moins en partie, l'entropie du ligand, l'ensemble de ces deux contributions ralentit la décomplexation des deux partenaires dans EI et peut également indirectement augmenter la vitesse d'association (k_{on}), et donc l'affinité. Parmi ces contacts interchangeables, des calculs d'orbitales moléculaires sur EI entre FKBP12 et **8** ont révélé la formation d'interactions électroniques à courte distance de type π - π montrant pour la première fois l'importance de ce type d'interaction dans la reconnaissance entre protéine et ligand. De plus, un petit nombre de contacts permanents est formé dans les deux EI entre la protéine et certains atomes du ligand. Deux de ces atomes notamment agissent comme des points d'ancrage, contribuant à fixer le ligand à la protéine dans EI. Ce dernier résultat permet d'expliquer la prépondérance de ces deux atomes dans l'ensemble des structures des ligands de haute affinité connus de FKBP12.

La soutenance est publique.