

Cartographie 3D d'une protéine pour aider la recherche sur la mucoviscidose

Les protéines membranaires jouent un rôle prépondérant dans de nombreuses fonctions biologiques. L'étude de leurs structures 3D est cependant souvent difficile à réaliser tant sur le plan expérimental que sur le plan théorique. Des chercheurs de l'équipe BIBIP de l'IMPMC ont proposé un modèle de l'architecture 3D de la protéine CFTR, un canal ionique dont le dysfonctionnement conduit à la mucoviscidose. Ils montrent aujourd'hui que ce modèle, validé par de récentes données de cryo-microscopie électronique, fournit des indications précieuses quant aux conformations actives du canal ionique, non encore observées par voie expérimentale. En collaboration avec l'équipe PHYSIX, ils ont mis en place les outils théoriques nécessaires à l'exploration exhaustive du paysage conformationnel de CFTR, en vue de cartographier ses différents états et d'évaluer l'impact fonctionnel de mutations à caractère pathogène ainsi que l'effet de petites molécules qui s'y lient.

La protéine CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator), chaîne polypeptidique de 1480 acides aminés, soit 23948 atomes fait partie d'une grande famille de protéines membranaires, appelées transporteurs ABC (ATP Binding Cas-sette), assurant le transport de divers substrats au travers des membranes biologiques. Elle se démarque cependant des fonctions « classiques » des transporteurs ABC, puisque c'est un canal anionique permettant le transfert d'ions chlorures et bicarbonates au travers de la membrane des cellules épithéliales qui bordent les voies des systèmes exocrines (voies respiratoires et digestives). Les mutations affectant le gène codant pour cette protéine sont à l'origine d'une maladie grave, la mucoviscidose. Elles conduisent à des défauts moléculaires qui, souvent, se combinent et que l'on essaye de corriger au moyen de multi-thérapies, ciblant des sites distincts sur la protéine. La connaissance de la structure 3D de la protéine dans ses différents états conformationnels est donc critique pour comprendre l'impact de mutations et guider de façon rationnelle la recherche de modulateurs.

Nos travaux ont précédemment conduit à obtenir un modèle de structure 3D de la protéine CFTR, réalisé à très haut niveau de divergence évolutive sur la base du moule 3D d'un transporteur ABC bactérien. Ce modèle, inséré dans une membrane et dans une boîte d'eau, conduit à un ensemble dynamique d'environ 250 000 atomes et met en évidence des éléments critiques du fonctionnement de la protéine. Validé par comparaison avec les récentes structures expérimentales obtenues en cryo-microscopie électronique, il donne des indications supplémentaires quant à l'état actif du canal. Celles-ci portent sur les régions repliées de la protéine, au niveau desquelles est observée une plasticité particulière de certains éléments de structure secondaire, mais aussi au niveau de régions dites « désordonnées », sièges d'interaction de la protéine avec ses partenaires

cellulaires. Un modèle a ainsi pu être proposé, rendant compte de l'interaction de la protéine CFTR avec la filamine, une protéine du cytosquelette impliquée dans la stabilisation de la protéine dans la membrane.

Afin de pouvoir étudier de façon exhaustive le paysage conformationnel de la protéine CFTR, les chercheurs de l'équipe BIBIP ont mis en place une collaboration avec l'équipe PHYSIX. Ils ont ainsi utilisé des techniques de dynamique moléculaire avancée (métadynamique) afin de pouvoir accéder à des événements rares et reconstruire le paysage d'énergie libre associé à l'espace conformationnel ainsi défini. Le défi principal de ces études réside en la définition d'un jeu de variables collectives pertinentes, ainsi qu'en la description de la complexité conformationnelle associée aux mécanismes de conduction ionique. L'ouverture et la fermeture du canal sont en effet le résultat de changements de structure complexes, allant du positionnement relatif des régions du squelette de la protéine à la formation/destruction de fortes interactions électrostatiques (ponts salins) et à la pénétration/expulsion de molécules d'eau dans différentes régions de la macromolécule. Les études ainsi réalisées permettent l'établissement d'une cartographie 4D, c'est-à-dire tenant compte de l'évolution des conformations de la protéine CFTR au cours du temps (figure), facilitant l'interprétation des simulations de dynamique moléculaire qui seront ensuite conduites en présence de mutations ou de modulateurs, dont les sites de fixation sont actuellement à l'étude en étroite synergie avec des équipes de biologistes et de chimistes (consortium financé par l'association Vaincre La Mucoviscidose).

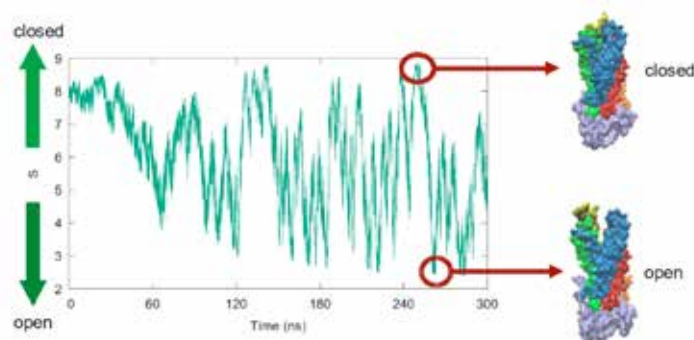


Figure 1
Evolution de la variable collective S décrivant l'état (ouvert ou fermé) du canal CFTR au cours d'une simulation de métadynamique.

En conclusion, ces recherches, fruits d'une collaboration étroite entre deux équipes de l'IMPIC, ont des portées tant fondamentales qu'appliquées. En effet, elles permettent de mettre en place de puissants outils pour étudier les mécanismes moléculaires de conduction d'ions, ou plus généralement de transport au travers de protéines membranaires. D'un point de vue appliqué, ces outils seront utiles pour anticiper le comportement de protéines modifiées (mutations ou modulateurs) dans le cadre du développement d'une médecine dite de précision.

Référence

"Combining theoretical and experimental data to decipher CFTR 3D structures and functions"
Hoffmann B, Elbahnsi A, Lehn P, Décout JL, Pietrucci F, Mornon JP, Callebaut I.
Cell Mol Life Sci, 75, 3829-2855 (2018)

Contacts

ahmad.elbahnsi@upmc.fr
fabio.pietrucci@upmc.fr
jean-paul.mornon@upmc.fr
isabelle.callebaut@upmc.fr