

Thème 4: Peptides Pathologiques et peptides thérapeutiques (Responsable : Cyrille Garnier)

Les maladies amyloïdes sont la conséquence de changements conformationnels dans les protéines qui favorisent la formation de dépôts filamenteux insolubles. L'accumulation de ces dépôts dans divers organes et tissus est impliquée dans plus de trente maladies humaines, notamment neurodégénératives, telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Huntington, la maladie de Parkinson, l'amyloïdose des protéines prion et certaines maladies amyloïdes systémiques [1, 2]. Ces maladies sont de plus en plus répandues en raison du vieillissement de la population, c'est pourquoi l'étude des processus d'agrégation de protéines amyloïdes présente un intérêt majeur. Les agrégats sont composés de fibrilles amyloïdes dont la taille va du nano au micromètre et a des caractéristiques structurales communes caractérisées par une structure quaternaire en feuillets β -croisée [2]. Pour la plupart des protéines amyloïdes, seuls de petits segments dans leur séquence, c'est-à-dire des motifs de 5 à 20 acides aminés, sont responsables de leurs propriétés agrégatives. Les peptides synthétiques correspondant à ces segments sont couramment utilisés comme modèles pour élucider les mécanismes d'agrégation de type amyloïde. L'utilisation de ces peptides synthétiques présente au moins deux avantages; le premier est qu'ils s'auto-assemblent rapidement *in vitro*; le second, les fibrilles amyloïdes ainsi formées *in vitro* ont des propriétés biophysiques similaires à leurs homologues *in vivo*, ce qui en fait des outils essentiels pour analyser les mécanismes de la fibrillation amyloïde de leurs aspects morphologiques-fonctionnels à leurs détails atomiques [3-7].

Les objectifs de ce projet de recherche sont multiples, le premier consiste à d'identifier et à caractériser le ou les domaines protéiques impliqué(s) dans les processus auto-associatifs, le second vise à comprendre comment la protéine entière et/ou ses différents domaines/segments peuvent devenir pathologiques suite à une mutation, à des modifications des paramètres physicochimiques et/ou à l'exposition vis à vis de polluants environnementaux. Le troisième consiste en une caractérisation rigoureuse des paramètres cinétiques des processus auto-associatif dans le but de tester différents inhibiteurs. Plusieurs modèles protéiques sont en cours d'étude au sein de notre équipe : la huntingtine, la protéine tau, la protéine TDP-43 et le fibrinogène. Ces protéines ou les peptides issus de celles-ci sont retrouvées agrégées dans l'organisme et sont responsables de différentes pathologies amyloïdes pouvant être localisées ou systémiques. C'est le cas dans la sclérose amyotrophique latérale, les dégénérescences fronto-temporales et dans de nombreuses autres pathologies neurodégénératives parmi lesquelles Alzheimer, Parkinson et la maladie de Huntington.

Nos travaux de recherche s'effectuent par une approche multiple *in silico*, *in vitro* et *in vivo*. La partie *in silico* permet l'identification des domaines peptidiques « pathologiques » par prédiction de leur amyloïdogénicité. La partie *in vitro* biochimique/biophysique se focalise sur l'étude des capacités auto-agrégatives de différentes protéines pathologiques mutantes et/ou de différents domaines ou peptides. Le(s) domaine(s) ainsi identifié(s) et les formes pathologiques de la protéine caractérisées, nous nous focalisons alors sur la compréhension du processus auto-associatif et sa régulation par des inducteurs (peptides, paramètres physicochimiques, polluants environnementaux) ou des molécules inhibitrices. La partie *in vivo* consiste en l'expression des protéines mutantes amyloïdes de façon stable dans des modèles animal sur lesquels sont appliqués différentes conditions de croissance (alimentation ou autres...) et auxquels seront administrés différents inhibiteurs tels des peptides ou dérivés peptidiques « médicaments » ou des molécules chimiques ayant montré une activité *in vitro* sur les agrégats amyloïdes.

Le suivi des différents phénotypes permettra d'une part, de corrélérer le caractère pathogénique du mutant considéré à la dégénérescence observée et d'autre part, de découvrir de nouveaux médicaments dans le traitement des maladies neurodégénératives.

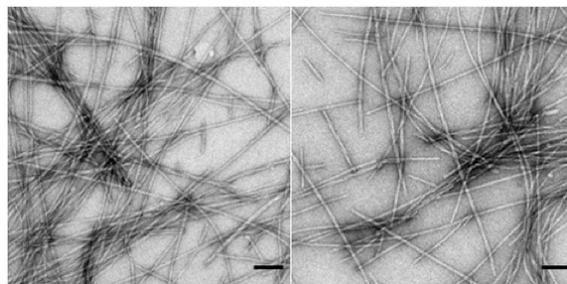
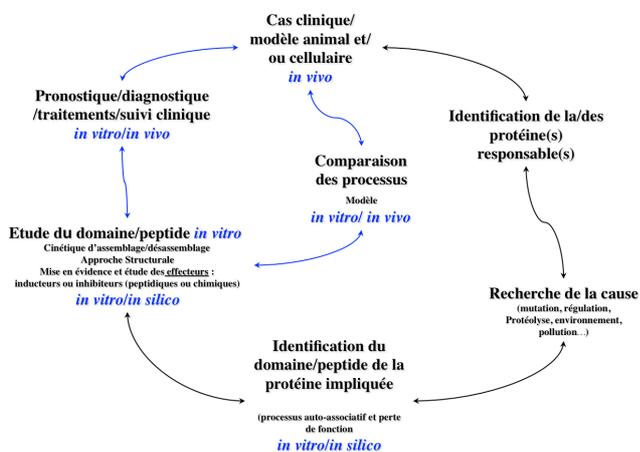


Image typique obtenue par microscopie électronique. Fibres amyloïdes formées *in vitro* à partir de peptides modèles. Barre d'échelle : 100 nm

Identification, caractérisation, inhibition et traitement.
Du peptide incriminé à l'organisme vivant.

- [1] Sipe, J. D.; Benson, M. D.; Buxbaum, J. N.; Ikeda, S.; Mertini, G.; Saraiva, M. J. and Westermark, P. Nomenclature 2014: Amyloid fibril proteins and clinical classification of the amyloidosis. *Amyloid*, 2014, 21(4), 221-224.
- [2] Knowles, T. P.; Vendruscolo, M. and Dobson, C. M. The amyloid state and its association with protein misfolding diseases. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(6), 384-396.
- [3] Nelson, R.; Sawaya, M. R.; Balbirnie, M.; Madsen, A. O.; Riekel, C.; Grothe, R. and Eisenberg, D. Structure of the cross-beta spine of amyloid-like fibrils. *Nature*, 2005, 435(7043), 773-778.
- [4] Goux, W. J.; Kopplin, L.; Nguyen, A. D.; Leak, K.; Rutkofsky, M.; Shanmuganandam, V. D.; Sharma, D.; Inouye, H. and Kirschner, D. A. The formation of straight and twisted filaments from short tau peptides. *J Biol Chem*, 2004, 279(26), 26868-26875.
- [5] Inoue, M.; Hirata, A.; Tainaka, K.; Morii, T. and Konno, T. Charge-pairing mechanism of phosphorylation effect upon amyloid fibrillation of human tau core peptide. *Biochemistry*, 2008, 47(45), 11847-11857.
- [6] Inoue, M.; Konno, T.; Tainaka, K.; Nakata, E.; Yoshida, H. O. and Morii, T. Positional effects of phosphorylation on the stability and morphology of tau-related amyloid fibrils. *Biochemistry*, 2012, 51(7), 1396-1406.
- [7] Rojas Quijano, F. A.; Morrow, D.; Wise, B. M.; Brancia, F. L. and Goux, W. J. Prediction of nucleating sequences from amyloidogenic propensities of tau-related peptides. *Biochemistry*, 2006, 45(14), 4638-4652.