
Identification d'un état excité de la cible thérapeutique humaine HSP90 : caractérisation structurale, cinétique et thermodynamique par RMN en solution

Faustine Henot*¹, Elisa Rioual¹, Adrien Favier¹, Pierre Gans¹, Elodie Crublet², Bernhard Brutscher¹, Matthias Frech³, Pavel Macek^{2,1}, and Jérôme Boisbouvier¹

¹Institut de Biologie Structurale (IBS) – Commissariat à l'Énergie Atomique et aux Énergies Alternatives (CEA) - Grenoble, CNRS : UMR5075, , University of Grenoble Alpes (UGA) – 71 avenue des martyrs, 38044 GRENOBLE, France

²NMR-Bio – Commissariat à l'Énergie Atomique et aux Énergies Alternatives (CEA) - Grenoble – 5 place Robert Schuman, F-38025 Grenoble, France

³Merck [Darmstadt] – Frankfurter Straße 25064293 Darmstadt, Allemagne

Résumé

HSP90 est une protéine chaperonne fondamentale, nécessaire au repliement et à la stabilisation de nombreuses protéines clientes [1], qui a été reportée comme cible thérapeutique contre le cancer. Plusieurs chémotypes de ligands, compétiteurs de la liaison à l'ATP sur le domaine N-terminal de HSP90 ont été développés par l'industrie pharmaceutique cependant aucun n'a encore été approuvé. [2,3] HSP90 est une protéine très flexible rendant particulièrement complexe la conception de ligands permettant d'inhiber ses fonctions. Néanmoins, bien que la plasticité des macromolécules soit largement reconnue, les méthodes actuelles de conception rationnelle de médicaments ignorent, la majeure partie du temps, le rôle de la dynamique des protéines dans les paramètres thermodynamiques et cinétiques obtenus lors de la liaison de ligands.

En utilisant la spectroscopie RMN en combinaison avec des techniques de marquage isotopiques avancées sur les groupements méthyles nous avons pu attribuer l'ensemble des fréquences du domaine N-terminal de HSP90 et ainsi étudier les changements structuraux et dynamiques de la protéine apo et en complexe avec deux inhibiteurs. Nous avons mis en évidence, en calculant l'ensemble conformationnel peuplé par N-HSP90 en solution, la présence de plusieurs états et pu résoudre la structure de l'état fondamental et pour la première fois la structure de l'état excité de N-HSP90 à température ambiante dans son état apo et lors de sa liaison avec un inhibiteur de type résorcinol. Nous avons confirmé, avec des expériences CPMG, que la protéine apo et en complexe était en échange conformationnel entre un état fondamental et un état excité. Cet échange a été caractérisé cinétiquement et thermodynamiquement et il a été observé que l'état excité était stabilisé pour la protéine en complexe avec un ligand à visée thérapeutique.

De plus, nous avons pu montrer que, bien que les deux ligands partagent une structure chimique comparable et une affinité similaire envers HSP90, ils modulent différemment la

*Intervenant

structure et la dynamique de leur protéine cible. Ces résultats, obtenus pour des inhibiteurs avec des temps de résidence très différents sur HSP90 (secondes vs minutes), apportent une base structurale pour comprendre le rôle de la dynamique conformationnelle de la protéine cible dans la liaison d'un potentiel candidat médicament.

Y. Miyata et al. *Curr Pharm Des.* 19(3), 347-365, 2013.

ClinicalTrials.gov [internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US) – consulted on the 14/01/2021.

A. Yuno et al. *Methods Mol Biol*, 1709, 423-441, 2018.