

## Modélisation multi-échelle d'interactions moléculaires dynamiques. Application à la recombinaison homologue

### CONTEXTE

<http://www.ibpc.fr/~chantal/IMPBio/IMPBio71.html>

La recombinaison homologue est un processus essentiel de la vie, qui permet à la fois de créer et maintenir la diversité génétique, et de réparer les cassures double-brin de l'ADN. Elle implique une phase de recherche d'homologie de séquence entre l'ADN du génome et un nucléofilament formé par la polymérisation, sur un simple brin d'ADN, de RecA chez *E. Coli* ou Rad51 chez l'homme.

La recombinaison a de nombreuses applications dans le domaine de la santé, notamment dans le cadre de thérapies géniques ou du traitement de cancers, à condition de maîtriser son efficacité et de comprendre en quoi certaines séquences d'ADN influencent son efficacité.

### OBJECTIFS

Le projet a pour but l'exploration du mécanisme de la recombinaison homologue et, en particulier, la compréhension des effets de séquence d'ADN dans l'efficacité ou le blocage de la recombinaison. Il est centré sur la construction d'un modèle multi-échelle portant sur la recherche d'homologie [1].

. A l'échelle locale (atomique), les interactions entre l'ADN et les protéines majeures de la recombinaison homologue seront explorées de façon théorique par modélisation moléculaire, après construction du complexe.

. A l'échelle moléculaire, les informations obtenues doivent être intégrées dans une modélisation de type «Monte Carlo dynamique», permettant d'aborder la dynamique de la recherche d'homologie à des échelles de temps beaucoup plus longues, en prenant en compte l'agitation thermique.

. Enfin, les résultats de Monte Carlo doivent être combinés à un modèle à encore plus grande échelle, prenant en compte de façon analytique la dynamique macromoléculaire et les phénomènes de diffusion très spécifiques qu'elle implique [1].

L'outil ainsi obtenu devrait permettre d'appréhender les effets de séquences répétées, encore très mal compris dans la recherche d'homologie [2-4]. Les résultats seront confrontés d'une part à des études de biologie structurale, et d'autre part à une étude expérimentale de la recombinaison homologue combinant des techniques de biologie moléculaire et des études sur molécule unique à l'aide d'un dispositif de «pincettes magnétiques» [5].

Après validation, cette méthodologie générique pourra être transposée à de nombreux problèmes de modélisation de processus dynamiques impliquant l'ADN et des protéines.

### PROJET

- A l'échelle locale (atomique) : développement d'outils de modélisation moléculaire permettant d'effectuer l'assemblage du filament nucléoprotéique («docking» flexible) : ATTRACT [6] s'adresse aux assemblages protéine/protéine avec boucles ou domaines d'interface flexibles, ce qui est le cas pour RecA et Rad51, MC2 [7] aux assemblages protéine/ADN ; extraction d'énergies d'interaction, d'énergie de déformation de l'ADN (étirement B <-> S)

- A l'échelle moléculaire : introduction de ces données dans la modélisation "Monte Carlo dynamique"; validation de l'outil pour des séquences à effet connu; prédiction du comportement de séquences d'intérêt biologique ou thérapeutique.

### RESULTATS

- Monte Carlo dynamique : Mise au point du modèle et mise en œuvre sur des séquences répétées [8]

### CALENDRIER

- Octobre / Novembre – Réunion de démarrage (IBPC, Paris)
- Mars – Réunion de concertation - Modélisation (IC, Paris)
- Mai – Réunion Générale (IC, Paris)

### LABORATOIRES IMPLIQUES

Laboratoire de biochimie Théorique / UPR 9080 / Paris  
Macromolécules and Macrosystems in Biology and Medicine / Institut Curie - CNRS UMR 168 / Paris  
Recombinaison et Instabilité des Génomes / IC - CNRS UMR 2027 / Paris

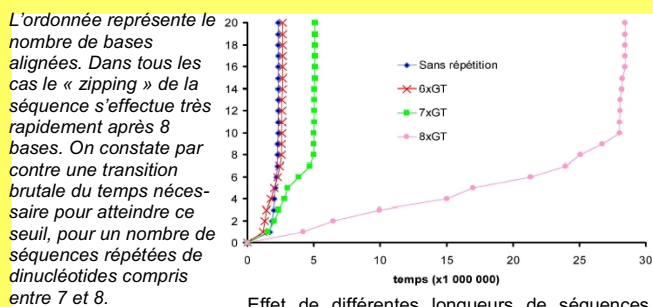
### MOTS CLES

Recombinaison homologue, reconnaissance de séquence, simulation, approche multi-échelles, nano-manipulation sur molécules uniques

### PUBLICATIONS PRINCIPALES

- [1] Dutreix, M., R. Fulconis and J.L. Viovy. 2003. The search for homology : a paradigm for molecular interactions? *Complexus* 1: 89-99
- [2] Dutreix, M. 1997. (GT)<sub>n</sub> repetitive tracts affect several stages of RecA-promoted recombination. *J. Mol. Biol.* 273: 577-586
- [3] Gendrel, C.G., A. Boulet and M. Dutreix. 2000. (CA/GT)<sub>n</sub> microsatellites affect homologous recombination during yeast meiosis. *Genes Dev.* 14: 1261-1268
- [4] Biet, E., J.-S. Sun and M. Dutreix. 2003. Stimulation of D-loop formation by polypurine/polypyrimidine sequences. *Nucleic Acids Res.* 31: 1006-1012
- [5] Fulconis, R., A. Bancaud, J.F. Allemand, V. Croquette, M. Dutreix and J.L. Viovy. 2004. Twisting and untwisting a single DNA molecule covered by RecA protein. *Biophys. J.*, 87: 2552-2563
- [6] Bastard, K., C. Prévost and M. Zacharias. 2005. Accounting for loop flexibility during protein-protein docking. *Proteins: Struct., Funct., Gen.*, sous presse
- [7] Bastard, K., A. Thureau, R. Lavery and C. Prévost. 2003. Docking macromolecules with flexible segments. *J. Comput. Chem.*, 24: 1910-1920
- [8] Fulconis, R., M. Dutreix and J.L. Viovy. 2005. Numerical investigation of sequence dependence in homologous recognition : evidence for homology traps. *Biophys. J.* sous presse

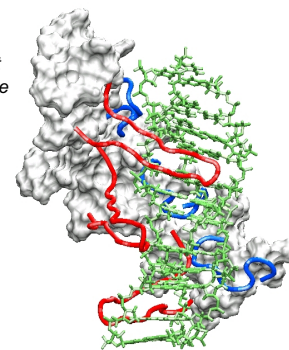
### EFFET DE SÉQUENCES RÉPÉTÉES



Effet de différentes longueurs de séquences répétées sur le temps de recherche d'homologie par un nucléofilament « 25-mer ».

### MODÈLE DE NUCLÉOFILAMENT

Trois monomères de RecA sont représentés. Les boucles flexibles L1 et L2 de RecA sont en bleu et en rouge. Le reste de la protéine est représenté en mode surface, en gris. L'ADN (vert) est issu d'études précédentes par modélisation portant sur l'ADN seul, sous contraintes géométriques reproduisant celles exercées par RecA (Bertucat 99). Il s'agit d'un ADN triple brin de forme R, obtenu après échange de brins.



Modèle préliminaire du filament nucléoprotéique RecA/ADP/ADN, inactif, obtenu par le programme MC2.