

## Prédiction des Spécificités d'Interaction des domaines régulateurs pour la Dissection et l'Etude des Réseaux d'interaction protéine-protéine

<http://www-spider.cea.fr/>

### CONTEXTE

Les premières cartographies globales des interactions protéine-protéine révèlent l'existence de réseaux d'interactions fortement interconnectés dans lesquels la grande majorité des protéines se trouve à proximité les unes des autres. Les phénotypes induits par la délétion de grandes régions d'un gène qui permettent de mesurer son importance peuvent s'avérer trop drastiques pour interpréter le rôle fonctionnel des différentes interactions dans lesquelles une protéine est impliquée. La dissection des réseaux d'interactions et la compréhension de leur coordination interne imposent de les perturber plus localement en abrogeant ou atténuant une interaction spécifique au sein du réseau. Cette analyse fonctionnelle requiert l'identification préalable des sites d'interactions entre les partenaires et constitue l'objectif central de notre projet.

### OBJECTIFS

Notre projet vise à élaborer un ensemble de méthodes bioinformatiques pour identifier les sites d'interactions protéine-protéine impliquant des domaines régulateurs retrouvés dans un grand nombre de protéines modulaires. Ces domaines sont capables de reconnaître des motifs de séquence spécifiques. La prédiction de la spécificité d'interaction de ces domaines sera effectuée par un ensemble de méthodes originales couplant prédiction de structure et criblage *in silico* de bibliothèques de peptides.

- prédire la structure tridimensionnelle des complexes formés par les domaines et leur ligand peptidique.
- criblage de l'interaction d'un vaste ensemble de ligands peptidiques complexés.

La première étape du projet consiste à développer des méthodes qui permettent de construire des modèles structuraux d'un niveau de précision suffisant pour l'étape de criblage virtuel. L'évaluation des énergies d'interaction lors du criblage associe i) l'analyse statistique des alignements de séquence ii) la fonction d'énergie empirique, FoldX que nous avons développée précédemment [1,4] iii) une évaluation de l'énergie libre avec traitement de l'électrostatique calculée selon la loi de Poisson-Boltzmann. Ces prédictions seront validées expérimentalement sur des domaines fréquemment retrouvés dans les protéines de la réparation de l'ADN (FHA, BRCT, Polo, Tudor [5]). Les résultats obtenus seront validés *in vitro* par des expériences de biochimie et de biophysique (RMN). *In vivo*, les résultats de ces analyses seront directement utilisés pour générer des mutants d'interaction permettant d'abroger très spécifiquement certaines voies de signalisation tout en préservant le reste du réseau d'interaction [2] et [3].

### PROJET

Développer des méthodes de prédiction de structure et de criblage virtuel de bibliothèques de peptides qui permettent de prédire les spécificités de reconnaissance des domaines régulateurs.

Application aux familles de domaines FHA, BRCT, Polos et Tudor fréquemment impliquées dans les réponses aux stress génotoxiques.

Prédiction de sites d'interaction avec validation expérimentale *in vivo* et *in vitro*.

### RESULTATS

- Validation de la stratégie générale par la prédiction correcte d'un site de reconnaissance entre deux partenaires biologiques (Rad53 et Ptc2) à partir de la connaissance des spécificités d'interaction [2] et [3].
- Identification par RMN du site d'interaction canonique des domaines Tudor [5].
- Prédiction correcte des affinités à partir des structures à haute résolution (validation des méthodes de scoring) [1,4]. La partie prédiction de structure reste la partie de la méthode à optimiser.

### CALENDRIER

2004	Octobre / Novembre (Paris). Optimisation Scoring. Structure RMN des domaines Tudor de 53BP1
2005	Octobre. Prise de fonction du post-doc pour l'analyse <i>in vivo</i>
2006	Automatisation de l'approche prédictive

### LABORATOIRES IMPLIQUES

CEA / SBFM , URA 2096 – DBJC / Gif sur Yvette  
CEA / SBGM / Gif sur Yvette  
CEA / DIEP / Gif sur Yvette

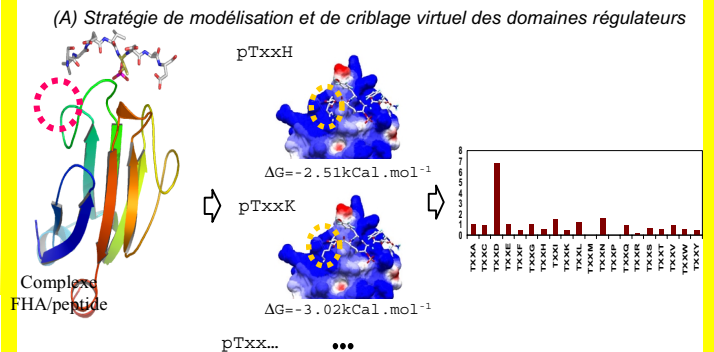
### MOTS CLES

Prédiction de structure 3D, criblage virtuel, interactions protéine-protéine, domaines régulateurs, FHA, Tudor, RMN, spécificité de reconnaissance, design des protéines

### PUBLICATIONS PRINCIPALES

- [1] Guerois, R., Nielsen, J. E., and Serrano, L. (2002). Predicting changes in the stability of proteins and protein complexes: a study of more than 1000 mutations. *J Mol Biol* 320, 369-387.
- [2] Leroy, C., Lee, S. E., Vaze, M. B., Ochsenbein, F., Guerois, R., Haber, J. E., and Marsolier-Kergoat, M. C. (2003). PP2C phosphatases Ptc2 and Ptc3 are required for DNA checkpoint inactivation after a double-strand break. *Mol Cell* 11, 827-835.
- [3] Guillemain, G., Ma, E., Mauger, S., Guerois, R. and Marsolier-Kergoat, M.C. Mechanisms of checkpoint kinase Rad53 deactivation after a double-strand break in *Saccharomyces cerevisiae*. In preparation.
- [4] Becker E., Madaoui H., Guerois R. . . In R. Guerois & M. Lopez de la Paz, editor, *Protein Design. Methods in Molecular Biology*. Humana Press, (2005). In preparation.
- [5] Charier G, Couprie J, Alpha-Bazin B, Meyer V, Quemeneur E, Guerois R, Callebaut I, Gilquin B, Zinn-Justin S. (2004) The Tudor tandem of 53BP1: a new structural motif involved in DNA and RG-rich peptide binding. *Structure*. 12(9):1551-62

### CRIBLAGE VIRTUEL et APPLICATION



(B) Exemple de validation et application *in vivo* à l'analyse des réseaux, avec la carte d'interactions globale établie par spectrométrie de masse (Ho et al 2002). Les protéines possédant des domaines médiateurs d'interactions soulignés en gras Prédiction et mutation du site d'interaction entre la kinase Rad53 et la phosphatase Ptc2 par la connaissance des spécificités de reconnaissance du domaine FHA1 de Rad53. En cascade, identification de la kinase phosphorylant Ptc2 en amont de la voie [2] et [3].

