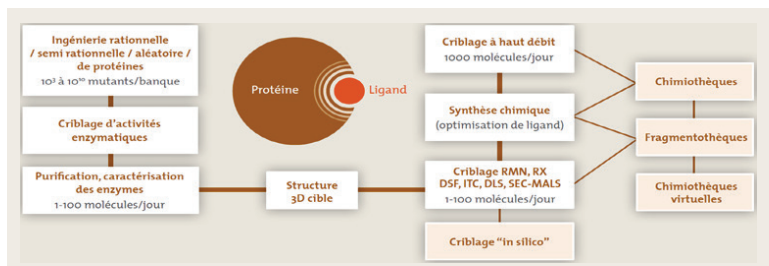


Du criblage au design moléculaire

La Plateforme Intégrée de Criblage de Toulouse (PICT) est une plateforme multi-sites dont l'activité s'articule autour (1) de l'identification et de la conception de ligands interagissant avec tout type de cibles, (2) de la découverte et de l'ingénierie d'enzymes et (3) de la caractérisation fine des interactions cible-ligand. Cette activité repose sur des expertises et des équipements de pointe pour le criblage à haut débit de ligands ou d'enzymes, leur caractérisation structurale, l'analyse biophysique des interactions cible-ligand et la synthèse chimique de petites molécules.



Ces équipements et expertises se répartissent sur trois sites :

- l'Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale (IPBS : biophysique, biologie structurale et bioinformatique) ;
- le Laboratoire de Synthèse et Physicochimie des Molécules d'Intérêt Biologique (LSPCMIB : chimie, synthèse, analyse et purification) ;
- *Toulouse Biotechnology Institute* (TBI : découverte et optimisation d'enzyme).

PICT occupe ainsi une position centrale dans le processus de développement de nouveaux médicaments, en aval de la découverte et de la validation d'une cible thérapeutique et en amont des études ADMET (Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination, Toxicité) et de la pharmacologie clinique.

Responsables :

Laurent Maveyraud
Virginie Nahoum

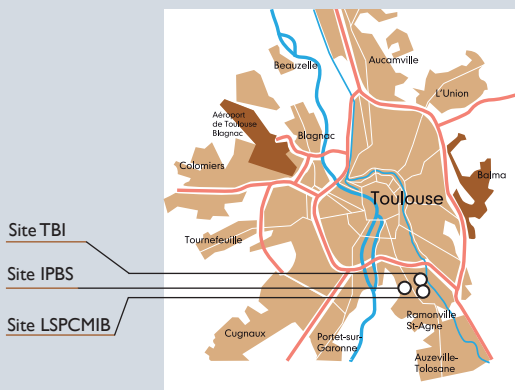
Contact :

pict@ipbs.fr

Site web :

<http://cribligand.ipbs.fr/>

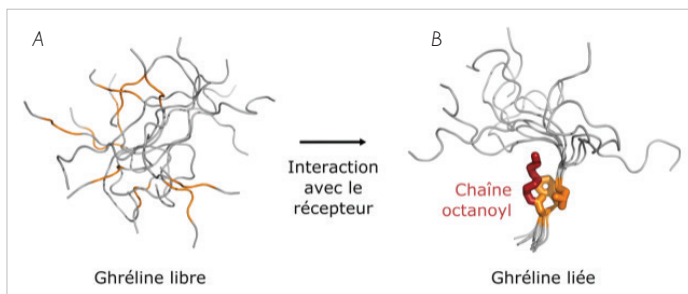
Localisation des équipements



Fait marquant scientifique :

Activation d'un récepteur couplé aux protéines G par son ligand naturel, la ghréline

Élucider les mécanismes moléculaires impliqués dans la reconnaissance de peptides naturels par leurs récepteurs couplés aux protéines G est un enjeu majeur de la pharmacologie. Deux équipes de la région Occitanie, l'une toulousaine (A. Milon, équipe « RMN biologique intégrative », IPBS) l'autre montpelliéraine (J.-L. Banères, équipe « Pharmacologie cellulaire », IBMM), se sont associées pour mettre en oeuvre des approches biochimiques et biophysiques de pointe et résoudre la structure d'une hormone peptidique, la ghréline, dans son état lié à son récepteur. La ghréline est un acteur majeur en physiologie humaine, impliqué dans des actions aussi diverses que la sécrétion de l'hormone de croissance, l'appétit, l'homéostasie du glucose, mais aussi l'addiction aux drogues et à l'alcool, la dépression ou certains cancers. Ces données parues dans la revue *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1) en 2019, montrent que, loin d'une vision statique de type clé-serrure, la dynamique du peptide dans son état lié joue un rôle majeur dans ses interactions avec son récepteur. Ces nouveaux concepts et données contribueront à une meilleure compréhension du fonctionnement du couple ghréline - récepteur et au développement de nouveaux ligands de ce récepteur utilisables en thérapie ou en diagnostic. Ils s'inscrivent dans la longue histoire des recherches sur la ghréline conduite à l'IBMM depuis 15 ans et ayant notamment abouti à la mise sur le marché en 2019 d'un agoniste non-peptidique de son récepteur pour le diagnostic de la déficience en hormone de croissance chez l'adulte. Ils illustrent aussi l'apport déterminant de la RMN, combinée ici aux approches de pharmacologie moléculaire et de modélisation, dans la compréhension de la dynamique fonctionnelle du vivant.



(A) Ensemble de conformations illustrant la structure et la dynamique de la ghréline au sein de son récepteur. Cet ensemble de structures a été déterminé par RMN et modélisation moléculaire, avec un peptide marqué aux isotopes stables et de récepteur recombinant. La chaîne octanoyl y joue un rôle central d'organisation hydrophobe des acides aminés voisins dans la moitié N-terminale du peptide, strictement nécessaire à l'activation du récepteur. La grande dynamique de la moitié C-terminale est illustrée par la diversité des structures observées.

(B) Modèle du complexe ghréline - récepteur issu des simulations de dynamique moléculaire et rendant compte des données expérimentales.

PUBLICATIONS

- (1) Guillaume Ferré et al. *PNAS* 2019, 116 (35) 17525-17530 ; DOI:10.1073/pnas.1905105116.

ANIMATION SCIENTIFIQUE

- La plateforme PICT a participé à l'organisation du premier congrès de Biologie Structurale Intégrative qui s'est déroulé à Toulouse du 7 au 11 octobre 2019 et qui a réuni plus de 250 chercheurs de la discipline. Ce congrès a reçu le soutien de Génotoul.



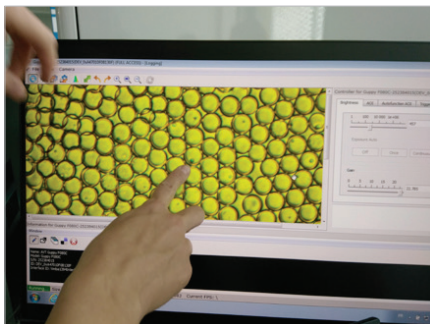
Fait marquant scientifique :

Découverte et ingénierie d'enzymes à ultra-haut débit avec la technologie microfluidique

La technologie microfluidique est de plus en plus répandue. Appliquée à l'imagerie, au séquençage, à la métabolomique, pour ne citer que quelques exemples, elle donne accès à une multitude d'analyses sur cellules uniques ou en microgouttelettes, permettant de générer beaucoup plus d'informations qu'auparavant, en diminuant drastiquement les échelles de réactions. Dans le domaine du criblage de bibliothèques de cellules, protéines ou molécules, ces technologies font également sens car la diminution considérable des volumes de réaction et l'augmentation des cadences autorisent alors l'exploration de diversités immenses qui n'étaient pas accessibles auparavant par les approches robotiques usuelles.

Un premier ensemble d'équipements de microfluidique a été acquis au printemps 2019 par la plateforme PICT-ICEO, grâce au projet européen *MetaFluidics* (H2020, Gabrielle Véronèse, *Toulouse Biotechnology Institute* TBI). L'installation à façon dont nous disposons a bénéficié de l'aide experte de la société *Drop-Tech* (Cambridge), spécialiste de la technologie, qui nous a guidés dans le choix et l'achat de chacun des éléments du système.

Notre dispositif actuel permet de produire des microgouttelettes d'échelle micrométrique (volume ~8 pL), et d'isoler dans ces gouttelettes une bactérie - ou une levure - qui pourra se développer, produire une enzyme d'intérêt et catalyser la transformation d'un substrat. Ces gouttelettes sont ensuite triées par cytométrie en flux, sur la base de la fluorescence liée à l'action de l'enzyme (utilisation de substrats fluorogéniques par exemple), à des cadences de génération de gouttes et de tri de l'ordre de 106/h, pour des volumes de réactifs d'un millilitre.



Grâce à l'implantation de cette technologie, PICT-ICEO peut aujourd'hui mettre en oeuvre des campagnes de criblage à ultra haut-débit tout en diminuant drastiquement les quantités de réactifs du fait de la réduction extrême des volumes de réaction. Le tri d'enzymes ou de microorganismes dans des bibliothèques de très grande taille sur des substrats rares et coûteux devient possible. Cette nouvelle capacité d'exploration de plus grands espaces fonctionnels représente un enjeu majeur pour maintenir PICT-ICEO dans sa position stratégique pour l'identification et l'amélioration de catalyseurs enzymatiques. Dorénavant accessible à l'ensemble de la communauté scientifique, la microfluidique offrira de larges perspectives pour la métagenomique fonctionnelle, l'ingénierie d'enzymes et de souches. Elle contribuera significativement à l'accélération de la construction de catalyseurs optimisés pour la biologie de synthèse et la construction de nouvelles voies métaboliques.

ANIMATION SCIENTIFIQUE

- Du 19 au 22 mai 2019, a eu lieu à Toulouse la 13^{ème} édition du *Carbohydrate Bioengineering Meeting* (CBM13, <https://cbm13.sciencesconf.org/>), dont le comité d'organisation était présidé par le Prof. Magali Remaud-Siméon (TBI, PICT). Cette conférence internationale de prestige, qui a bénéficié du soutien de Génoutoul, a réuni des spécialistes internationaux des glycosciences qui ont partagé leurs dernières découvertes et réalisations.

