

Master 1 Biologie Intégrative et Physiologie (PAPH)
Année 2023 - 2024

Étude du mode d'interaction de la Sertraline et de l'Indatraline avec les transporteurs NPC1/NPC2, par modélisation moléculaire

Léa Massias

Laboratoire BIGR, équipe DSIMB (Alexandre De Brevern – Senior Research Director)

Encadrant : Julien Diharce – Assistant Professor

Remerciements

Je tiens à remercier tout d'abord Julien Diharce, mon tuteur pour m'avoir fait confiance et m'avoir accueillie au sein de l'équipe DSIMB du Laboratoire Biologie Intégrée du Globule Rouge. Venant d'un parcours purement biologique, aussi je lui suis très reconnaissante d'avoir cru en ma capacité de m'insérer dans une équipe de bio-informatique. Je le remercie pour son accompagnement, sa disponibilité et sa pédagogie, pour tout le temps qu'il a passé à me transmettre des connaissances et des méthodes de travail. J'ai pu découvrir des méthodes et outils nouveaux pour moi et apprendre à les utiliser avec la joie d'observer des résultats intéressants et exploitables pour l'avancée d'un projet.

Je remercie aussi le Directeur Alexandre De Brevern pour m'avoir accueillie au sein de son équipe. Ses conseils et ses mises en perspectives m'ont été très enrichissants tout au long du stage.

Je remercie enfin l'ensemble de l'équipe pour leur gentillesse et pour m'avoir permis de m'intégrer aussi rapidement dans l'équipe. La cohésion et la bonne entente ont rendu cette expérience agréable et motivante. Merci particulièrement à Ragousandirane pour m'avoir également aidée et laissé utiliser « wasabi » pour réaliser mes simulations de dynamiques moléculaires, j'espère qu'elles n'ont pas trop ralenti tes propres opérations ;)

Grâce à eux tous, ce stage a été pour moi une très belle expérience, et une très belle découverte de l'activité de recherche. Je leur adresse une nouvelle fois mes remerciements et ma reconnaissance.

À bientôt, j'espère !

Table des matières

Introduction	1
Matériels et Méthodes	5
1. Structure des protéines et des médicaments	5
2. Amarrage moléculaire (Docking)	6
3. Simulation de dynamique moléculaire	7
3.1 Simulation avec le transporteur seul	8
3.2 Simulation avec le ligand naturel, le cholestérol	9
3.3 Simulation avec les ligands non naturels (Sertraline et Indatraline)	9
Résultats	11
1. Prédiction des sites de liaisons des médicaments sur NPC1/NPC2 par amarrage moléculaire	11
1.1 Résultats sur NPC1	11
1.2 Résultats sur NPC2	11
2. Évaluation du comportement des différents systèmes avec NPC2 au cours du temps	13
2.1 Système NPC2 Apo	13
2.2 Système NPC2 Holo	14
2.3 Systèmes NPC2 avec la Sertraline	16
2.3.1 NPC2 – Sertraline non chargée (atomes de chlore vers l'extérieur)	16
2.3.2 NPC2 – Sertraline non chargée (atomes de chlore enfouis)	17
2.3.3 NPC2 – Sertraline chargée (atomes de chlore enfouis)	18
Discussions et perspectives	20
Bibliographie	23
Annexes	25
Résumé	27

Liste des Abréviations

CTD : C-terminal domain

FDA : Food and Drug Administration

LDL : Low density Lipoprotein

M6P : Mannose-6-Phosphate

MCI : Mort cellulaire immunogène

MD : Molecular Dynamic

MLD : Middle luminal domain

NPC1 : Niemann-Pick type C1

NPC2 : Niemann-Pick type C2

NTD : N-terminal domain

PDB : Protein Data Bank

RMSD : Root Mean Square Deviation

SMILES : Simplified molecular-input line-entry system

SSD : Sterol-sensing domain

TFEB : Transcription factor EB

Introduction

Le cancer est une maladie multifactorielle pour laquelle à ce jour il n'existe toujours pas de traitements capables de l'éradiquer complètement. Nous savons que les cellules cancéreuses sont capables de détourner et mettre en place un micro-environnement toxique et bénéfique dans le but de promouvoir leur prolifération et leur croissance tumorale. Ce mécanisme spécifique est entre autres favorisé par les lysosomes.

Les cellules cancéreuses sont ainsi très sensibles à la disruption de l'intégrité de leur membrane lysosomale les rendant alors très vulnérables à des composés la ciblant¹. Cette vulnérabilité peut être causée par l'import nucléaire du facteur de transcription EB (TFEB). Ce dernier, une fois transloqué au noyau, va favoriser la transcription de gènes cibles impliqués dans la biogenèse lysosomale, provoquant alors l'élargissement de l'organite^{1,2}. De plus, cette perte d'intégrité membranaire lysosomale peut également être due à un changement de composition lipidique comme le cholestérol.

En effet, le cholestérol est un lipide circulant dans le sang, appartenant à la famille des stérols et est un composant principal des membranes cellulaires animales. En condition physiologique, il est soit directement produit par notre organisme, fabriqué par le foie, ou alors il provient de l'alimentation et est absorbé par voie intestinale. Étant un composé très hydrophobe, le cholestérol n'est donc pas soluble dans le sang et nécessite d'être associé à une autre molécule afin de pouvoir circuler et être transporté. Une de ces molécules est la lipoprotéine de basse densité. Cette dernière va contenir du cholestérol libre et estérifié et va permettre de le transporter dans le sang afin d'atteindre ses différentes cibles.

Une des étapes du transport du cholestérol est d'être acheminé jusqu'au lysosome. Les lipoprotéines de basse densité (LDL) vont pouvoir traverser la membrane du lysosome par endocytose médiée par récepteur et donc délivrer le cholestérol à cet organite. Si ce dernier est estérifié, il sera hydrolysé par la lipase acide à la lumière du lysosome, formant alors du cholestérol libre^{3,4}.

Une fois dans le lysosome, le cholestérol libre dérivé des LDL sera ensuite exporté vers le réticulum endoplasmique et la membrane plasmique. Cet export met en jeu deux transporteurs intracellulaires : la protéine Niemann Pick type C1 (NPC1) et C2 (NPC2).

NPC2 est une petite protéine de 161 acides aminés localisée à la lumière du lysosome et composée de feuillets β , c'est un tonneau- β tandis que NPC1 est une grosse protéine transmembranaire de 1311 acides aminés, localisée à la membrane du lysosome et composée d'hélices α . Cette dernière possède 13 domaines transmembranaires et trois domaines

luminaux : le domaine luminal N-terminal (NTD), moyen (MLD) et C-terminal (CTD)^{5,6,7}. Ces deux transporteurs vont alors interagir ensemble afin de pouvoir exporter le cholestérol libre en dehors du lysosome.

Dans un premier temps, NPC2 va subir un ciblage lysosomal afin de pouvoir y exercer sa fonction avec le cholestérol. Ce ciblage est dépendant de la voie Mannose-6-Phosphate, ainsi les molécules portant le marqueur Mannose-6-Phosphate seront reconnues par le Récepteur M6P à la surface cellulaire qui initiera par la suite un ciblage lysosomal.

Depuis la lumière du lysosome, NPC2 va pouvoir lier le cholestérol au niveau de son site de liaison et le transférer vers la poche de liaison appelée NTD de NPC1. Le cholestérol au niveau de NPC2 va se fixer au sein d'une cavité hydrophobe, avec sa chaîne latérale enfouie et son groupe hydroxyle (-OH) exposé au solvant⁷.

Dans un second temps, NPC2 va donc transférer son cholestérol au domaine de liaison aux stérols N-terminal de NPC1, le NTD. Cependant, ici, la liaison du cholestérol se fait dans une orientation opposée à NPC2³.

À ce jour, un deuxième site de liaison au sein de NPC1 a été découvert, le domaine transmembranaire de détection des stérols, le SSD, et un tunnel luminal reliant le NTD au SSD a été dévoilé⁶. Cette découverte suggère donc un passage du cholestérol du NTD de NPC1 au SSD, se trouvant dans le domaine transmembranaire de la protéine, afin que celui-ci puisse être *in fine* exporté en dehors du lysosome.

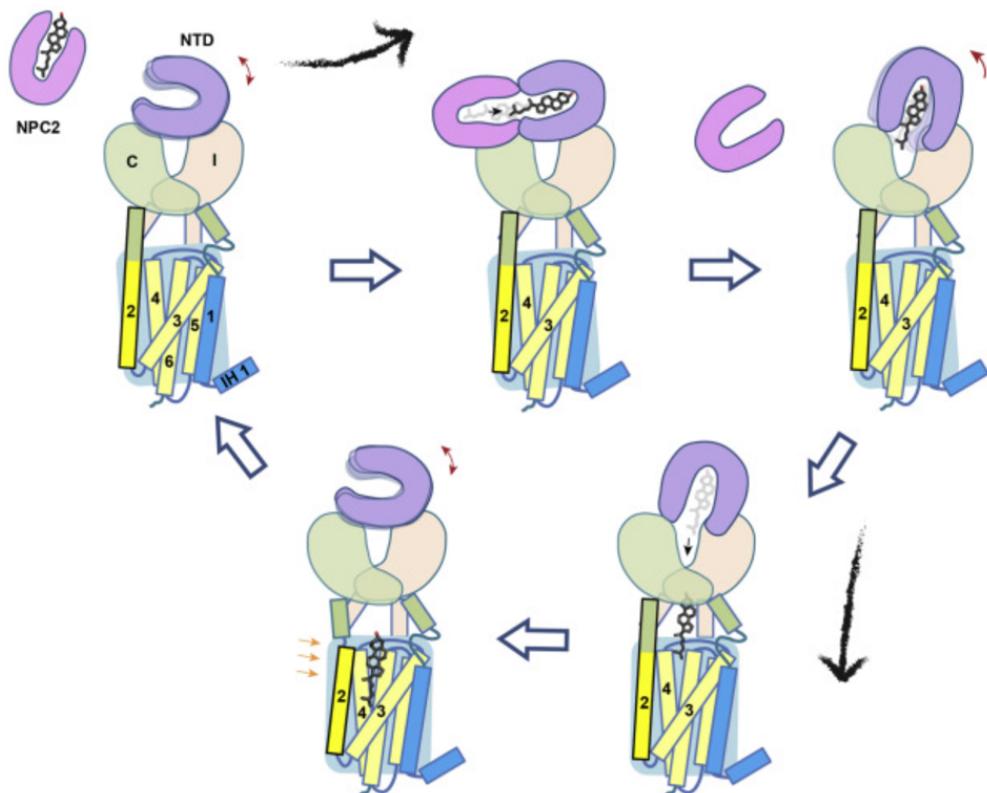


Figure 1 : Modèle de travail pour le transfert de cholestérol de NPC2 à NPC1-SSD

Une trajectoire « K-turn » pour l'administration du cholestérol est proposée sur la base des structures publiées et présentées d'après Qian et al., 2020. Le groupement hydroxyle du cholestérol figure en rouge.

Si ce tunnel venait à être bloqué, la sortie du cholestérol en dehors du lysosome, médiée par NPC1, serait alors supprimée et induirait donc une accumulation du cholestérol dans l'organite²³. Ce serait également le cas si un blocage du transfert du cholestérol de NPC2 vers NPC1 se produisait. C'est cette accumulation de cholestérol dans les lysosomes qui, dans le cas des cellules tumorales, conduit à la perméabilisation de la membrane lysosomale et peut induire une mort cellulaire immunogène (MCI)¹. Cette dernière constitue une mort des cellules cancéreuses provoquant une réponse immunitaire persistante, pouvant équivaloir à une vaccination.

Parmi 1200 médicaments approuvés par la FDA pour leur utilisation contre le cancer des os, l'ostéosarcome, un criblage d'une grande chimiothèque a été effectué afin de déterminer lesquels conduisaient à une accumulation lysosomale de cholestérol, à un import nucléaire de TFEB et à une cytotoxicité induite sur ces cellules tumorales¹. Parmi ces médicaments, deux d'entre eux se sont démarqués, répondant à l'ensemble des caractéristiques : la Sertraline et l'Indatraline¹. Ces deux médicaments sont initialement des antidépresseurs utilisés pour leur capacité à recapturer la sérotonine et sont structurellement très proches. Ces derniers sont des composés dits « lysosomotropes » en raison de leur capacité à pénétrer dans les lysosomes. Il a donc été démontré qu'en cas de traitement avec ces antidépresseurs, le pourcentage de mort des cellules tumorales était le plus élevé, avec une perte du potentiel de membrane mitochondriale ($\Delta\psi_m$) et une perméabilisation de la membrane cellulaire¹. De plus, il a été montré que les deux médicaments pouvaient interagir avec le site de fixation des stéroïdes dans NPC1/NPC2¹. Cela suggère donc une potentielle action des médicaments avec ces deux transporteurs.

Cette étude s'inscrit dans la continuité d'un article mettant en évidence l'inhibition du transport de cholestérol par la leelamine, un agent chimiothérapeutique anti-cancéreux⁸. Dans ce dernier, écrit par Gowda et al, en 2017, des dérivés de la leelamine et un composé lui étant structurellement proche ont démontré une fixation à NPC1. Ceci a permis de mieux comprendre ce qui conférait l'activité anti-cancéreuse de la leelamine et l'accumulation de cholestérol dans le lysosome, empêchant ainsi la cellule cancéreuse de détourner son environnement à son avantage⁸. La leelamine étant proche d'un point de vue chimique des

deux molécules suscitées, l'hypothèse que ces deux molécules puissent cibler NPC1 et NPC2 a donc été formulée.

Objectif de cette étude :

Ainsi nous avons pu voir que la Sertraline et l'Indatraline pouvaient induire une accumulation de cholestérol au sein des lysosomes, responsable alors de la mort des cellules tumorales. Cette accumulation serait due à l'inhibition de la fixation du cholestérol au niveau de NPC1/NPC2, en raison de la fixation de la Sertraline et de l'Indatraline.

Sur la base de ces postulats, **nous pouvons alors nous demander si la fixation de la Sertraline et de l'Indatraline au niveau des transporteurs NPC1 et NPC2 se confirme et si oui, comment. Pour répondre à ces interrogations, nous allons mettre en œuvre des méthodes de modélisation moléculaire.**

En effet, nous allons essayer de déterminer sur quel transporteur et à quel endroit précis les deux médicaments s'y fixent préférentiellement. De plus, nous allons également chercher à comprendre d'un point de vue atomistique comment les médicaments vont se fixer et comment cela va impacter la stabilité des transporteurs. Les mécanismes moléculaires associés à ces fixations seront analysés afin de pouvoir développer *in fine* des dérivés de ces molécules plus affins aux transporteurs. Nous nous axerons davantage sur NPC2 car la durée du stage ne permettait pas de conduire l'ensemble de cette étude sur NPC1.

À cette fin, nous utiliserons des expériences d'amarrage moléculaire (docking) permettant de prédire les différents sites de liaisons probables des deux médicaments au niveau des différents transporteurs. Nous réaliserons également des simulations de dynamique moléculaire nous permettant d'analyser et de comparer le comportement du transporteur seul, ou avec son ligand naturel le cholestérol, par rapport à celui avec les ligands exogènes, soit les deux médicaments la Sertraline et l'Indatraline.

Matériels et Méthodes

1. Structure des protéines et des médicaments

Pour les transporteurs NPC1 et NPC2 nous sommes partis, pour l'ensemble de cette étude, de la structure du complexe NPC1/NPC2 entier humain. Celui-ci a été résolu à 4 Angströms par méthode de cryo-microscopie électronique (Cryo-Em) à pH 5.5 correspondant au code PDB 6W5V par Qian et al.⁶.

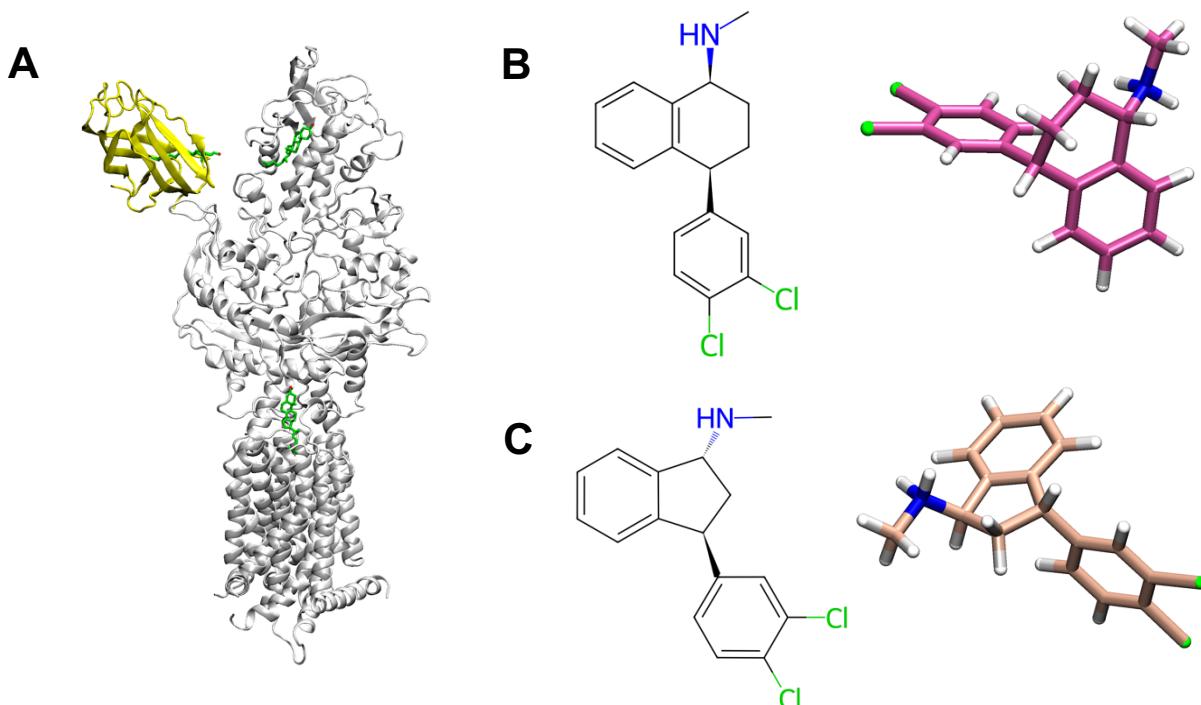


Figure 2 : Structure Cryo-Em du complexe NPC1/NPC2 entier humain (**A**), structure 2D et 3D de la Sertraline (**B**) et de l'Indatraline (**C**). En jaune est représenté NPC2 et en gris NPC1.

Pour la Sertraline et l'Indatraline, leurs structures 2D et informations détaillées ont été retrouvées sur le site de la ChEMBL, base de données bio-informatique de molécules bioactives⁹, sous ses identifiants respectifs : CHEMBL809 et CHEMBL1256749. Afin de les utiliser dans nos futures expériences, il est nécessaire de construire leurs structures 3D respectives (**Figures 2B et 2C**). Ceci a pu être réalisé grâce au logiciel Gypsum-DL¹⁰ qui a généré, à partir de leur code SMILES (représentation linéaire d'une molécule) (Tableau S1), différentes conformations.

Pour la Sertraline, son pKa étant de 9,16¹¹ et sachant que nous travaillons dans un système très acide qu'est le lysosome (pH estimé vers 5,5), il est probable qu'elle existe majoritairement sous sa forme protonée soit chargée positivement. De même pour l'Indatraline, qui a un pKa de 9,5 prédict par Chemaxon et retrouvé sur le site DrugBank. Ainsi, nous avons décidé de

considérer les deux états de protonations possibles de ces molécules (**Figure 2**). En effet, même si leurs formes majoritaires seraient protonées, il n'est pas question de l'absence totale de leur forme non protonée dans ce système d'étude.

2. Amarrage moléculaire (Docking)

Pour prédire les sites de liaisons probables de la Sertraline et de l'Indatraline au sein des transporteurs NPC1 et NPC2, et notamment le meilleur site d'interaction entre eux, nous avons procédé à des expériences d'amarrage moléculaire *in silico*, ou *Docking*.

L'amarrage moléculaire consiste à prédire la meilleure interaction entre un ligand et une protéine. Une grille autour de la protéine est définie afin de déterminer la zone à explorer pour la prédiction de l'interaction. Dans cette zone, l'espace conformationnel du ligand est exploré en lui faisant subir des changements de conformation afin de maximiser son énergie d'interaction avec la protéine. En effet, dans le vivant, les ligands sont flexibles donc il est nécessaire de mettre en avant cette flexibilité. Ce concept s'apparente à un mécanisme « clé-serrure » dans lequel la clé va être tournée de différentes manières, à la suite de nombreux calculs, pour déterminer l'orientation la plus favorable.

Pour chaque conformation du ligand, déterminée en interaction avec la protéine par le programme, une valeur d'énergie en kcal/mol correspondante est calculée par une fonction dite de « Score ». Cette dernière approxime une énergie libre de liaison et fait part à l'utilisateur de l'affinité du ligand au récepteur. Plus celle-ci est négative, meilleure est l'interaction.

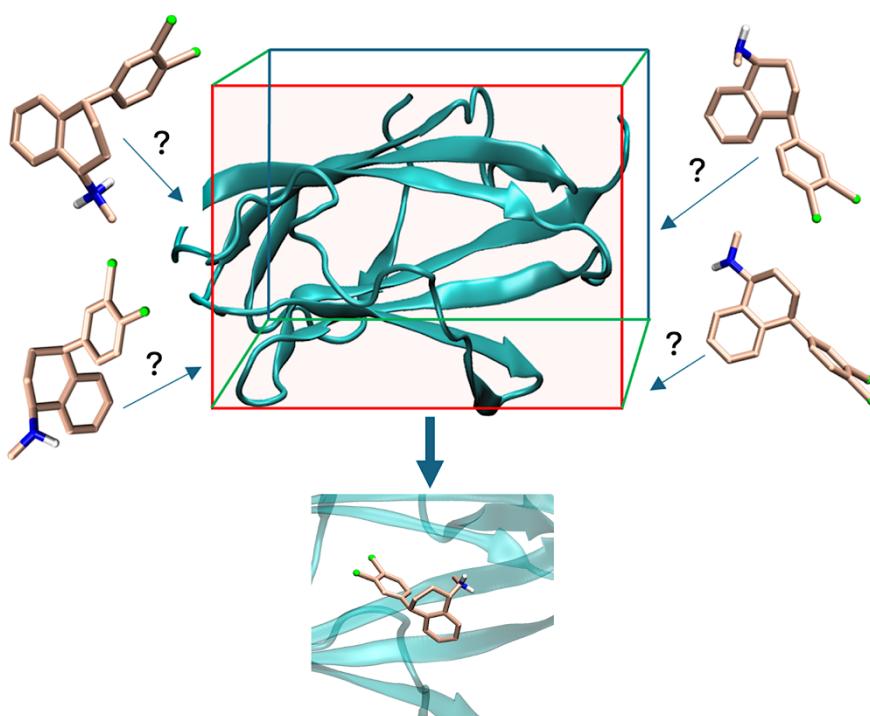


Figure 3 : Schéma représentatif du docking avec la grille d'interaction

Nous avons dans un premier temps préparé le récepteur (ici les protéines NPC1 et NPC2) sur AutoDockTools¹², c'est-à-dire ajouter des charges partielles et les atomes d'hydrogènes pour permettre les calculs énergétiques. Dans un second temps, la grille est définie, identifiant la zone dans laquelle nous voulons que les calculs soient exécutés.

Compte tenu des travaux précédents de *Qian et al.*, 2020 et de leur découverte d'un tunnel putatif reliant le NTD au SSD de NPC1, des expériences de blind docking ont été réalisées sur ce récepteur, car nous ne savons pas à l'avance où peuvent se fixer les ligands. Ceci permet d'effectuer une recherche précise des meilleurs sites d'interaction probables des médicaments au niveau de la structure entière de la protéine, le transporteur, afin de mettre en évidence le domaine de NPC1 permettant la meilleure fixation. Quant à NPC2, sa grille a également été définie sur l'ensemble de la protéine.

Finalement, les différentes expériences de docking sont lancées à l'aide du logiciel AutoDockVina^{13,14} en utilisant la fonction de score vina¹⁴.

Pour l'ensemble de nos expériences, 10 binding poses ont été calculées et ces résultats de docking ont pu être visualisés à l'aide de PyMOL¹⁵.

3. Simulation de dynamique moléculaire

Pour pouvoir déterminer et évaluer l'évolution du comportement dynamique de notre système, les transporteurs seuls ou avec ligand, nous avons procédé à des simulations de dynamique moléculaire.

Cette expérience consiste à créer une boîte de simulation virtuelle dans le but de mimer ce qu'il va se passer dans la cellule, au sein de notre système d'étude, le lysosome. La simulation dynamique peut ensuite s'exécuter pour générer ce que l'on appelle une « trajectoire », c'est-à-dire la succession de structures calculées au cours du temps.

Les mouvements de particules calculés se basent sur les équations de mouvement de Newton, donc des règles de mécanique classique. Les atomes sont des boules indéformables avec un volume donné, les liaisons des ressorts et on considère les termes d'énergie lié (liaison, angle, angle dièdre) et non lié (électrostatique, Van der Waals) (**Figure 4B**). L'application des concepts de translations, rotations et angles dièdres est fondamentale pour simuler et analyser le comportement des molécules. Le champ de force lui permet, à l'aide d'un calcul d'énergie, d'évaluer la stabilité du système. De plus, la protéine est entourée par une boîte d'eau qui agit comme solvant, auquel des ions sont ajoutés pour neutraliser le système. Par la suite, une minimisation de l'énergie potentielle est réalisée. En effet, les structures les plus stables correspondent généralement à des structures de plus basse énergie potentielle. Avant de

pouvoir lancer la simulation de dynamique moléculaire, il est nécessaire que le système soit équilibré à la bonne température et à la bonne pression, en introduisant les paramètres nécessaires, liés à la vitesse de chaque atome. Cela permet que l'ensemble des particules, la température, la pression et le volume soient constants. Après tout cela, nous pouvons lancer notre simulation de dynamique moléculaire à l'aide du logiciel Gromacs¹⁶.

Au cours de l'ensemble de notre étude, une boîte de simulation cubique a été choisie et le temps de simulation de dynamique moléculaire a été fixé à 500ns. L'ensemble des simulations ont été visualisées et analysées sur le logiciel VMD¹⁷, avec l'obtention de graphes sur le logiciel Grace.

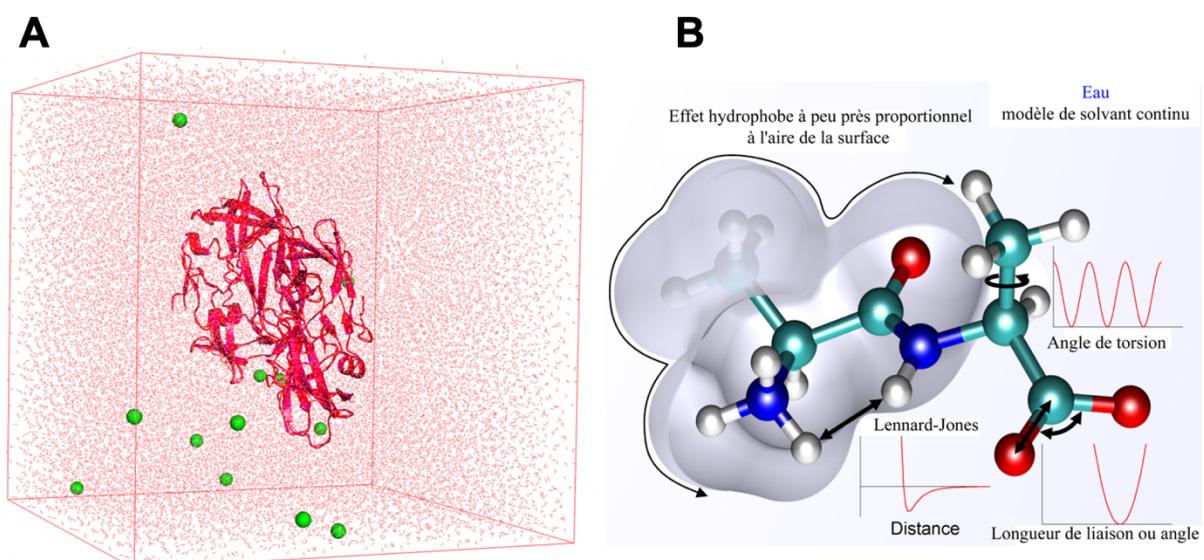


Figure 4 : Exemple d'un système avec une protéine dans une boîte cubique, incorporée dans de l'eau et des ions (sphères vertes)²² (**A**). Schéma d'une d'un champ de force (**B**)²¹.

Des répliques ont été réalisés car ils permettent d'échantillonner l'espace conformationnel, en allant explorer potentiellement une autre partie du système. En effet lors de son équilibration une graine aléatoire pour la génération des vitesses initiales est sélectionnée. Celle-ci différenciera donc à chaque fois qu'une même simulation sera lancée, portant ainsi le nom de réplica. Cela permet d'évaluer si le système se comporte toujours de la même façon et ainsi de confirmer nos résultats.

3.1 Simulation avec le transporteur seul

Pour la protéine NPC2 seule, dans sa conformation Apo, deux répliques ont été réalisés avec le champ de force OPLS-AA et un troisième avec le champ de force Charmm36¹⁸.

3.2 Simulation avec le ligand naturel, le cholestérol

Pour la protéine NPC2 en conformation Holo, complexée avec son ligand naturel le cholestérol, la simulation de dynamique moléculaire a été réalisée avec le champ de force Charmm36. En effet, pour chaque molécule utilisée, celle-ci doit être paramétrée par l'utilisateur si les paramètres ne sont pas renseignés dans les fichiers du champ de force. Dans le cas de Charmm36, les paramètres du cholestérol sont déjà intégrés. Le cholestérol étant un lipide souvent modélisé dans les simulations de membranes biologiques avec Charmm36, c'est pourquoi ses paramètres y sont déjà inclus.

3.3 Simulation avec les ligands non naturels (Sertraline et Indatraline)

Pour simuler un système comprenant la protéine NPC2 et les ligands protonés ou non, il est nécessaire de paramétriser ces ligands. En effet, les ligands étant inconnus des champs de force, il faut pouvoir générer leurs paramètres afin de les intégrer *in fine*. Pour la Sertraline dans sa forme protonée et non protonée, ses paramètres ont été générés par CgenFF¹⁹. C'est un programme en ligne qui effectue l'attribution des charges et des paramètres par analogie, pour des molécules drug-like. Ces résultats sont compatibles avec le champ de force Charmm36 pour être utilisés par la suite dans une MD. Lors de l'attribution, un score de pénalité à la fois pour les paramètres et les charges est obtenu afin d'évaluer la fiabilité ou non des résultats lors de l'usage de ces paramètres. Pour la Sertraline, ses paramètres générés sont corrects et utilisables. Cependant, pour l'Indatraline, au vu des score de pénalité des paramètres générés par CgenFF (95 et 68), le ligand n'a pas pu être utilisé dans les prochaines dynamiques présentées. En effet, des calculs d'optimisation plus complexes sont nécessaires. Ainsi, nous avons réalisé des simulations de dynamique moléculaire qu'en présence de la Sertraline chargée ou non.

Tableau 1 : Récapitulatif des différents systèmes réalisés pour les simulations de dynamique moléculaire

Systèmes	Nombre de réplicas	Temps de simulation par réplica	Temps de simulation total
NPC2 Apo	3	500 ns	1,5 µs
NPC2 Holo (Cholestérol)	1	500 ns	500 ns
NPC2 - Sertraline non chargée (atomes de chlore à l'extérieur)	2	500 ns	1 µs
NPC2 - Sertraline non chargée (atomes de chlore enfouis)	2	500 ns	1 µs
NPC2 - Sertraline chargée (atomes de chlore enfouis)	2	500 ns	1 µs

Résultats

Tout d'abord, nous avons pu mettre en avant, au niveau de NPC2, une très faible proportion de résidus titrables. Ces derniers correspondent aux acides aminés susceptibles d'être protonés au sein de la protéine soit : l'Aspartate, le Glutamate, la Lysine, l'Arginine et l'Histidine. Dans le cas de NPC2, seulement 24 résidus titrables ont été retrouvés sur 132 témoignant alors d'une cavité fortement hydrophobe de la protéine.

1. Prédiction des sites de liaisons des médicaments sur NPC1/ NPC2 par amarrage moléculaire

Nous avons par la suite cherché à déterminer les sites de liaisons de la Sertraline et de l'Indatraline au niveau de NPC1 et de NPC2.

1.1. Résultats sur NPC1

Pour la Sertraline, un des variants non chargé a été prédit interagissant soit au NTD, soit également avec le SSD et cela sans différence significative (**Figure 5A**). En effet, l'énergie d'interaction pour la meilleure pose obtenue au NTD est de -9,407 kcal/mol et pour la deuxième pose au SSD, de -8,74 kcal/mol. Ainsi, ce résultat permet de mettre en lumière l'importance du deuxième site de liaison de NPC1, le SSD, révélé par la littérature, et où la Sertraline peut s'y loger. Les résidus retrouvés en interaction sont : Ala756, Trp381, Leu380, Ile685 et Phe760. La majorité des interactions sont de nature hydrophobe. L'Ala756 semble être engagée dans une liaison hydrogène due à une distance entre atomes lourds idéale mais l'orientation de l'atome d'hydrogène ne l'est pas. Cette découverte, fait que les expériences comme la simulation de dynamique moléculaire n'a pas pu être réalisée sur NPC1, car il faudrait alors simuler la structure entière de la protéine. Cette dernière étant transmembranaire, le système serait plus conséquent et nécessitant un temps de calcul plus long, non compatible avec la durée du stage.

1.2. Résultats sur NPC2

Pour la Sertraline, trois variants ont été dockés, deux variants non chargés (deux conformations différentes), le troisième étant le second protoné, donc chargé positivement. Dans l'ensemble, la Sertraline se lie de façon favorable au NTD. Ici, seule la meilleure pose sera présentée ci-après. L'énergie d'interaction est respectivement de -8,81 kcal/mol (**Figure 5B**), -8,447 non chargée et -8,468 chargée (**Figure 5C**). En figure 1C, seule la Sertraline chargée a été présentée du fait de sa superposition avec la forme non chargée. Les résidus retrouvés en interaction sont : Tyr119, Trp128 et 141, Ile87, Leu113, Phe85. La Pro114 semblerait être impliquée dans une liaison hydrogène mais la distance avec l'hydrogène n'est

pas optimale (**Figure 5C**). Hormis cette dernière, l'ensemble des interactions sont de nature hydrophobe.

Pour l'Indatraline, il a également été montré que celle-ci venait se fixer de manière favorable au NTD. Ces résultats sont présentés en annexe (Figure S1).

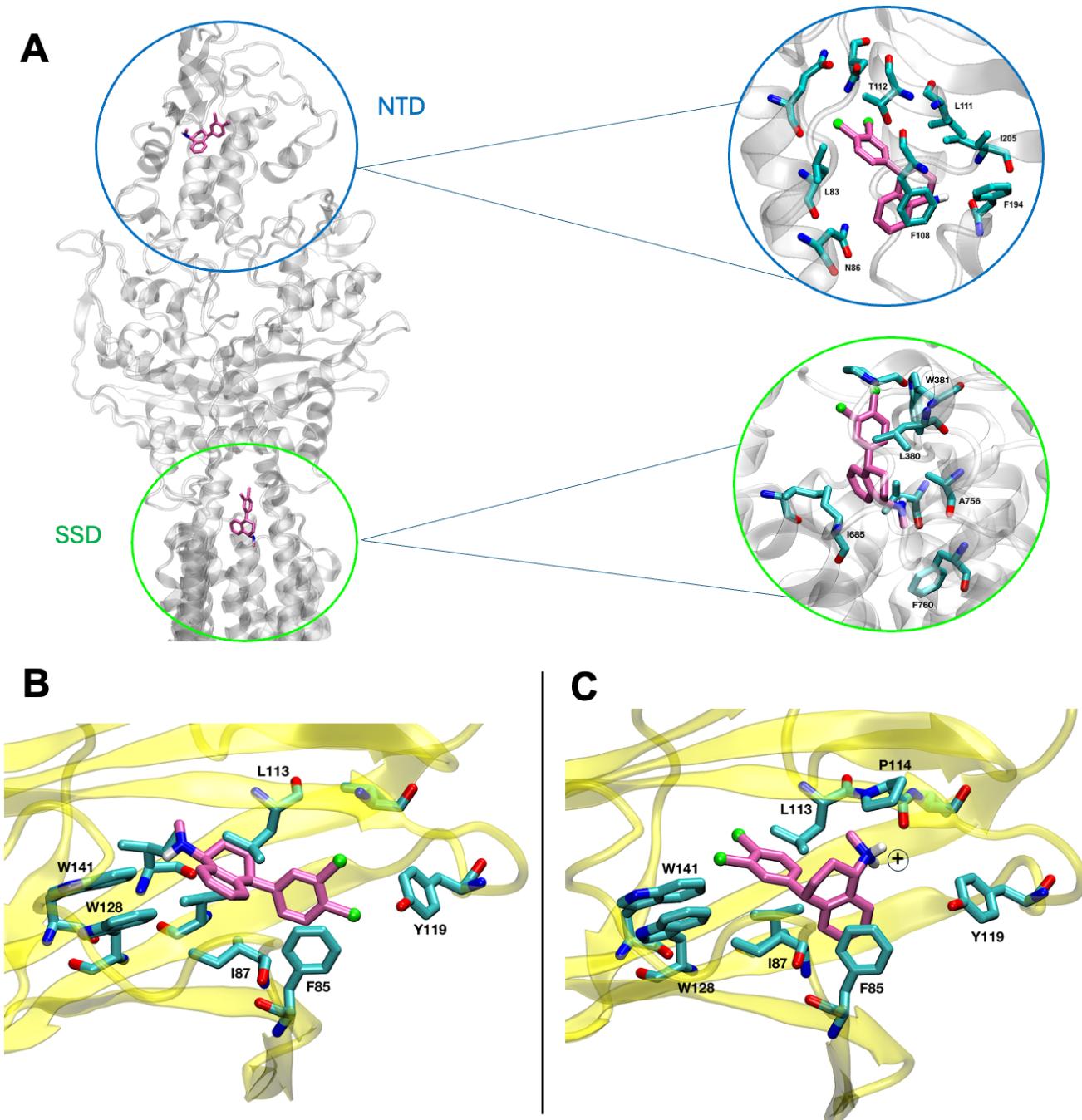


Figure 5 : Analyse des interactions de la Sertraline avec NPC1 / NPC2. Prédiction de l'interaction, entre NPC1 et la Sertraline avec un zoom sur le NTD et le SSD (**A**), entre NPC2 et la Sertraline non chargée (variant 1) (**B**) ou chargée (variant 3). La pose prédite pour le variant 2 est en tout point identique à celle présentée ici (**C**). La Sertraline figure en couleur rose.

2. Évaluation du comportement des différents systèmes avec NPC2 au cours du temps

2.1. Système NPC2 Apo

Afin d'évaluer le comportement de notre système avec NPC2 et les médicaments, il est nécessaire en amont d'observer celui du transporteur seul, en conformation Apo. Cette dernière est une représentation de la structure du transporteur non liée à quelconque ligand. Pour cela nous avons réalisé trois répliques de simulation de dynamique moléculaire.

Le RMSD (Root Mean Square Deviation) est une mesure très classique pour l'analyse des simulations de dynamique moléculaire. Il permet de montrer à quel point la molécule d'intérêt s'éloigne de sa conformation initiale au cours de la simulation et symbolise la stabilité du système. Plus sa valeur en Angströms est élevée, plus la déviation est forte et la présence d'un plateau montre une stabilisation de la structure. Nous pouvons observer que le RMSD est de manière générale inférieur à 3 Angströms pour l'ensemble des répliques, ce qui est un seuil classique pour estimer la stabilité d'une protéine. De plus, une belle superposition est constatée, signifiant un comportement similaire observable pour ce système (**Figure 6**). Nous pouvons ainsi en conclure que NPC2 en conformation Apo est très stable.

Il est également intéressant de noter qu'au frame 0 de la simulation, certaines ouvertures au niveau de la cavité, supposée contenir le ligand, sont présentes (**Figure 7A**). Tandis qu'au frame 20, une fermeture complète de cette cavité est observée (**Figure 7B**). Cela pointe une fermeture extrêmement rapide mise en place par la protéine. Ce mécanisme se produit car nous avons pu observer une présence majoritaire d'acides aminés hydrophobes dans cette cavité. Ainsi, celle-ci se referme très vite afin de ne pas être exposée au solvant. Cette fermeture est due à la Tyrosine119 et la Phenylalanine85 qui viennent immédiatement se plaquer l'une sur l'autre, créant une interaction de noyau aromatique à noyau aromatique, autrement appelé π stacking (**Figure 7B**).

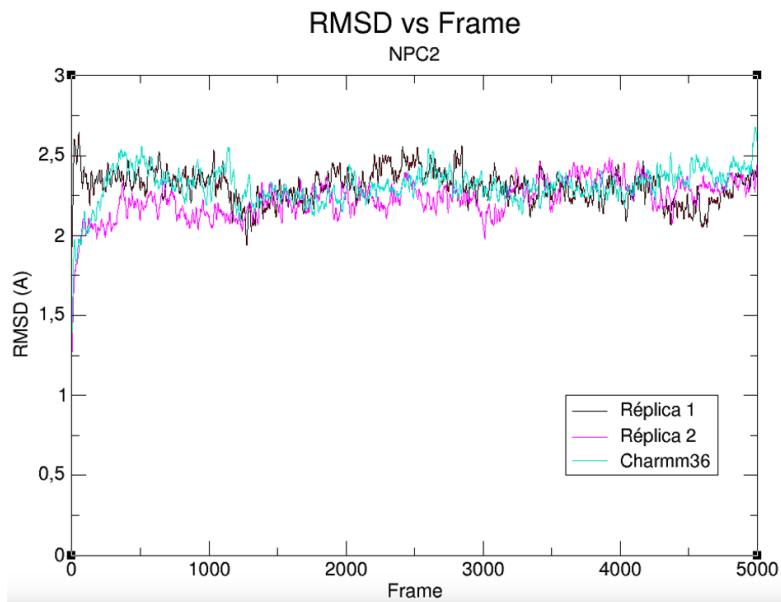


Figure 6 : Graphe du RMSD de la structure NPC2 Apo en fonction du nombre de frames.

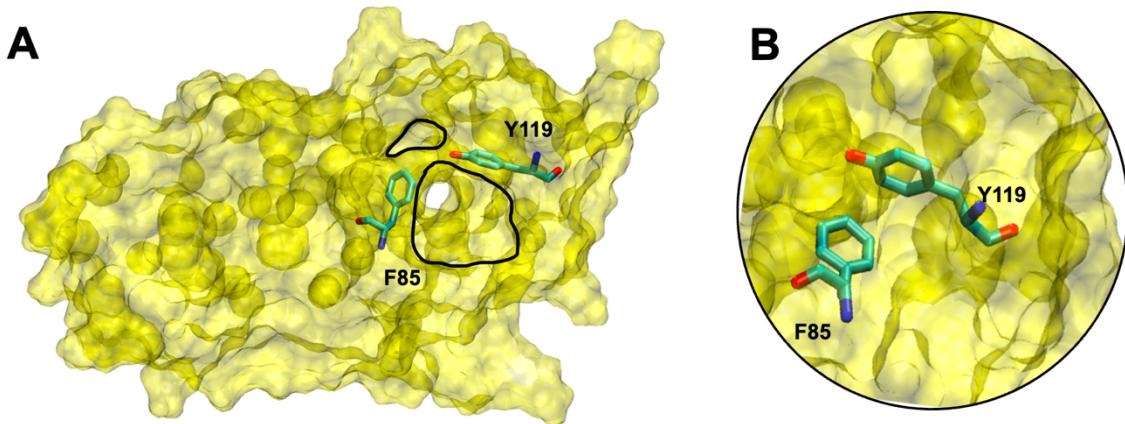


Figure 7 : Image de la protéine NPC2 en surface au frame 0 (**A**) et zoom au frame 20 (**B**).

2.2. Système NPC2 Holo

Maintenant que le comportement très stable de NPC2 a été établi, nous pouvons nous intéresser à présent à l'évolution du comportement du système comprenant **NPC2 avec** son ligand naturel, **le cholestérol**, et donc sa conformation Holo. Sur le graphe du RMSD à la fois de la protéine et du ligand, nous pouvons tout d'abord observer que le transporteur reste stable. En effet, nous ne constatons pas de fluctuations importantes du RMSD.

Pour le cholestérol, quelques variations conformationnelles par rapport à la structure initiale du ligand sont notables. Pour un ligand, qui est une molécule plus petite, une valeur de 2 Angströms peut être importante en terme de déviation (**Figure 8A**). Toutefois, l'interprétation dépend de la flexibilité initiale de la molécule. En effet, si l'on observe de plus près la structure du cholestérol, celui-ci possède un groupement hydroxyle (-OH) et une chaîne latérale qui sont très flexibles (**Figure 8B**). Les variations présentes sur le graphe correspondent donc aux mouvements de ces derniers et non à un réarrangement total du cholestérol dans ce système.

Sa position intrinsèque au cours de la simulation ne varie pas. En conclusion, le complexe NPC2 - Cholestérol et leur interaction sont très stables.

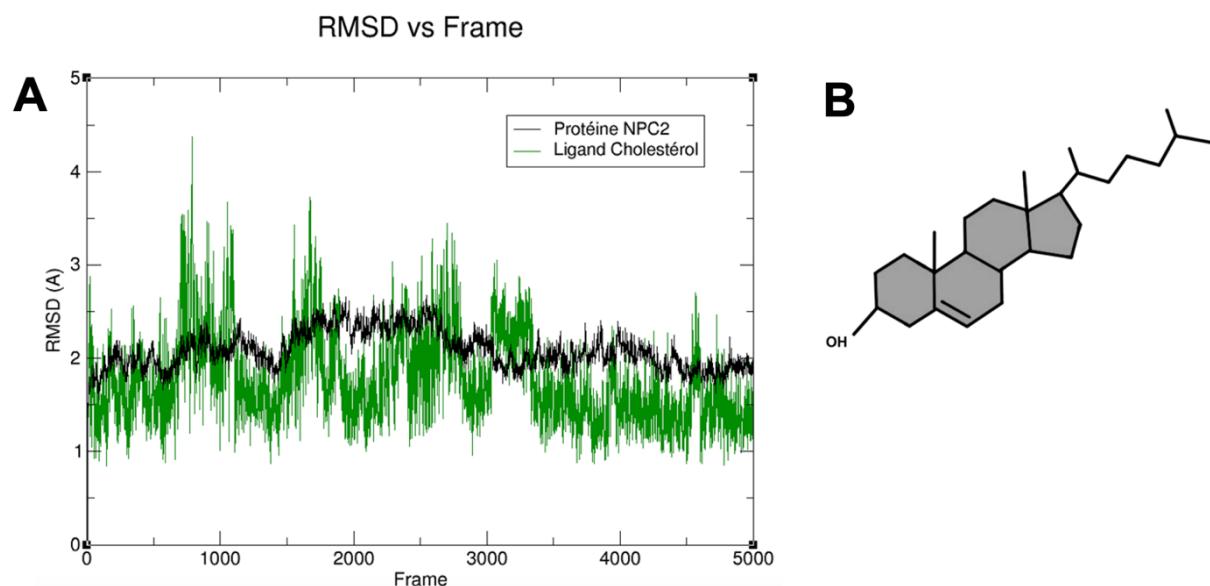


Figure 8 : Graphe du RMSD de la structure NPC2 Holo en fonction du nombre de frames (**A**). Structure du cholestérol (**B**)

Cette stabilité est par ailleurs conférée par différentes interactions avec les résidus de la protéine : La Phe85, Tyr119, Leu113, Ile147, Trp128. De nombreux résidus sont retrouvés en interaction avec le cholestérol et l'ensemble de ces interactions sont de nature hydrophobe. Aucune liaison hydrogène engagée avec le groupe hydroxyle du cholestérol n'est retrouvée. Celui-ci est par ailleurs le seul au contact du solvant (**Figure 9**). Certains des résidus figurant ci-après sont communs avec ceux retrouvés dans les schémas d'interaction avec les stéroïdes dans les structures de NPC2 bovin²⁰.

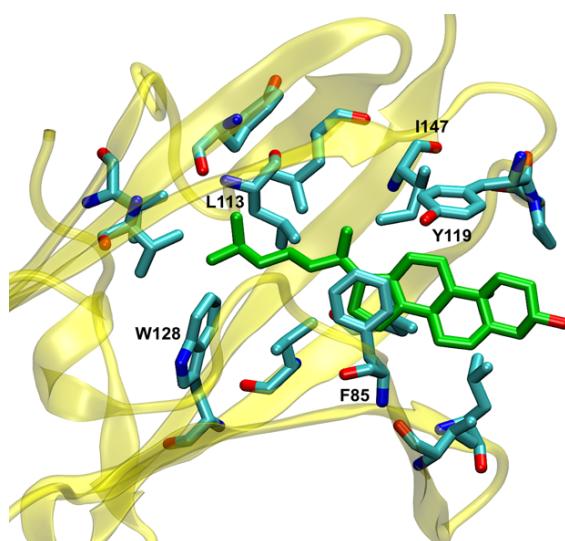


Figure 9 : Analyse de l'interaction entre NPC2 et le cholestérol à la fin de la simulation. Le cholestérol figure en couleur verte avec son groupement hydroxyle en rouge.

2.3. Systèmes NPC2 avec la Sertraline

Nous pouvons maintenant étudier et analyser comment le transporteur NPC2 se comporte avec la Sertraline et si leur fixation est stable ou non, au cours du temps. Lors de cette étude de NPC2 avec la Sertraline, trois systèmes ont été réalisés avec deux répliques chacun :

2.3.1. NPC2 – Sertraline non chargée (atomes de chlore vers l'extérieur)

Dans un premier temps, un système composé du transporteur NPC2 avec la Sertraline non chargée. La pose de docking du ligand au sein de NPC2 étant avec les atomes de chlore situés vers l'extérieur de la cavité.

Lors de cette simulation, les résidus retrouvés en interaction correspondaient à ceux déjà établis lors du docking (**Figure 1B**). Cependant, nous pouvons observer avec le RMSD que dès le début de la simulation, le ligand subit de forts changements conformationnels par rapport à sa structure initiale. Ceux-ci sont très marqués vers la fin de la simulation (**Figure 10A**). Comme on peut l'observer, le ligand se retourne complètement par rapport à son orientation de départ et se retrouve avec ses atomes de chlore orientés vers l'intérieur de la cavité (**Figure 10B**). Cette observation laisse à penser que dans ce schéma, la Sertraline tend plus à s'orienter avec ses chlores enfouis dans la cavité au sein de NPC2. C'est pourquoi dans la suite de notre étude, nous nous sommes concentrés sur la Sertraline et sa pose de docking avec les chlores orientés vers l'intérieur, qui semble être une pose plus stable d'après nos observations ici.

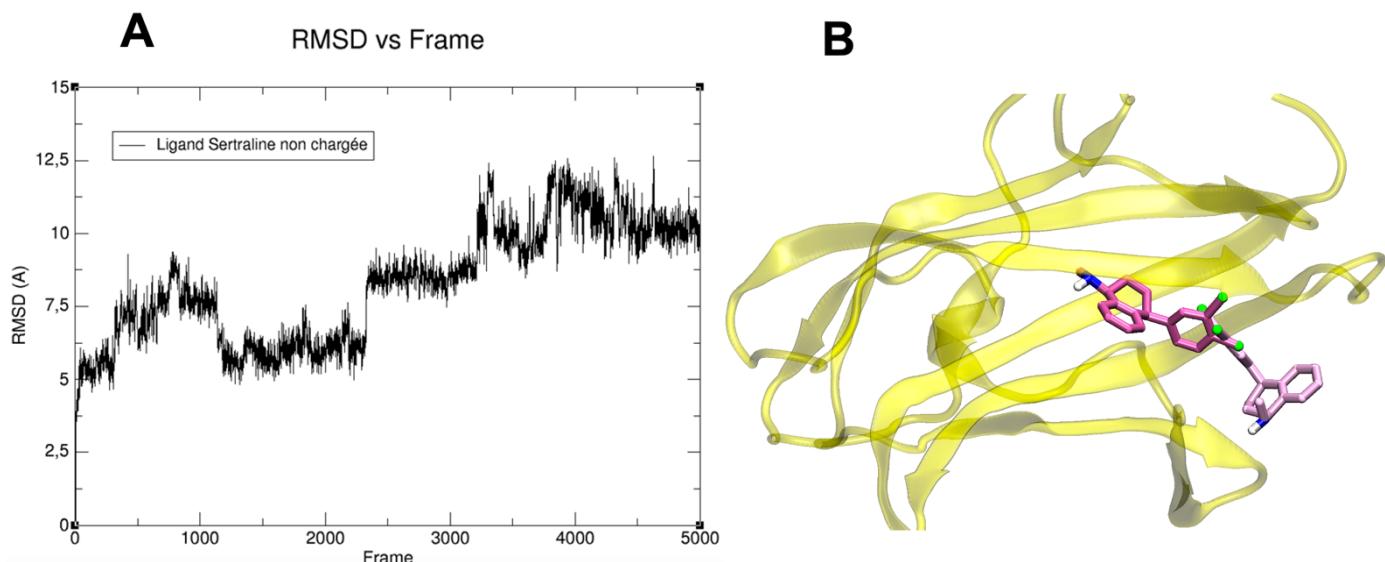


Figure 10 : Graphe du RMSD de la Sertraline non chargée en fonction du nombre de frames (**A**). Représentation visuelle de la Sertraline au sein de NPC2 avec sa pose initiale et sa pose finale (**B**) Sa pose initiale figure en couleur rose et sa pose finale en rose clair.

2.3.2. NPC2 – Sertraline non chargée (atomes de chlore enfouis)

Dans un second temps, un système composé de NPC2 et de la Sertraline non chargée avec ses chlores enfouis a été réalisé. Pour cette simulation, un réplica seulement sera discuté et le deuxième réplica figurera en annexe (Figure S2).

Tout d'abord, lorsque l'on regarde le RMSD du ligand, on observe que celui-ci atteint environ 2,5 Angströms aux environs du frame 1500 et que celui-ci se stabilise complètement avec l'obtention finale d'un plateau (**Figure 11A**). De plus, cette stabilisation du ligand est également visible lors de type π stacking, entre la Phenylalanine 85 et un des cycles aromatiques de la Sertraline. En ligne pointillée bleue, est affichée la liaison hydrogène entre l'oxygène du groupe hydroxyle (-OH) de la Tyrosine 119 et l'hydrogène sur l'azote de la Sertraline. Celle-ci est de 2,28 Angströms et l'angle est de 161,76° donc l'orientation des différents atomes font que la liaison est favorable et forte. De plus, nous pouvons également observer une liaison halogène. Cette dernière est une interaction spécifique entre un halogène, comme le chlore, et un groupement chimique possédant des doublets non liants, comme l'oxygène ou bien l'azote. Dans ce cas-ci, la liaison halogène implique l'atome d'oxygène du groupe hydroxyle de la Tyrosine 55 et le deuxième atome de chlore de la Sertraline. Celle-ci est de 3,12 Angströms et l'angle est de 148,2° (**Figure 11B**).

Ainsi, cette pose de fixation de la Sertraline au sein de la cavité de NPC2, semble plutôt stable.

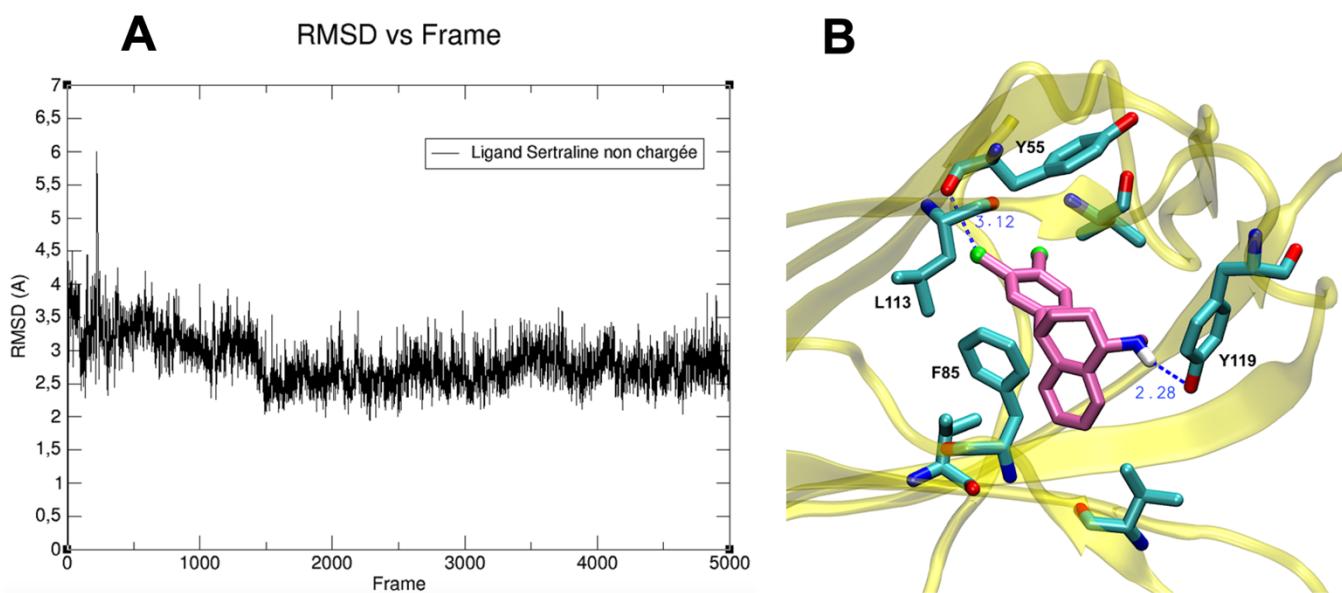


Figure 11 : Graphe du RMSD de la Sertraline non chargée en fonction du nombre de frames (**A**). Analyse de l'interaction entre NPC2 et la Sertraline non chargée, à la fin de la simulation. À gauche est représentée en pointillé bleu une liaison halogène entre l'oxygène de Y55 et le chlore de la Sertraline. À droite, est représentée une liaison hydrogène entre l'oxygène de Y119 et l'hydrogène de la Sertraline (**B**). La Sertraline figure en couleur rose.

2.3.3. NPC2 – Sertraline chargée (atomes de chlore enfouis)

Finalement, un système composé de NPC2 et de la Sertraline chargée avec ses chlores enfouis a été réalisé. Ici, la Sertraline est utilisée sous sa forme chargée car comme vu précédemment, au vu de son pKa et du pH très acide des lysosomes, sa forme majoritaire serait chargée. De plus, sa pose de docking étant tout à fait identique à celle du système précédent, cela permettra d'avancer si la charge est à l'origine d'un potentiel changement dans l'évolution du comportement du système ou non.

La superposition des RMSD des répliques, en figure indique que les deux ont un comportement complètement différent l'un de l'autre (**Figure 12A**).

Pour le premier réplica, son RMSD met en avant une déviation majeure du ligand par rapport à sa configuration initiale, pouvant aller jusqu'à 20 Angströms (**Figure 12A**). Ceci est tout à fait observable en fin de simulation avec une instabilité du ligand, que l'on observe complètement sorti de la cavité de la protéine (**Figure 12B**). Au vu de cette instabilité, aucune interaction n'est à mettre en avant.

Pour le deuxième réplica, à l'inverse du premier, son RMSD moyen est d'environ 3,6 Angströms et on peut noter la présence d'un plateau, témoignant d'une stabilité du ligand au sein de la protéine (**Figure 12A**). Des interactions hydrophobes par contact sont présentes entre les résidus Tyr119, Leu113, Ile87 et la Sertraline, mais également par π stacking avec Phe85. De plus, nous pouvons également constater une liaison hydrogène entre l'oxygène de la Proline 114 et l'hydrogène H5 de la Sertraline. Celle-ci est d'une distance d'1,67 Angströms et est formée par un angle de 163,76° (**Figure 12C**). Cet angle, bien compris entre 160 et 180° et la distance comprise entre 1 et 3 Angströms indique que cette liaison est favorable. Lorsque sa distance augmente à certains moments de la simulation, ceci est dû à la présence de cette même liaison hydrogène mais cette fois-ci avec l'hydrogène H4 de la Sertraline. En effet, lorsqu'une des liaisons est présente l'autre est absente et inversement (quand la distance d'une liaison diminue, celle de l'autre liaison augmente) (**Figure 12D**).

Ainsi, à ce stade de l'étude, il semble que la Sertraline chargée puisse ne pas être stable au sein d'une cavité hydrophobe comme l'est NPC2. En effet, sa charge entière fait qu'elle est très polarisante et recherche donc un environnement hydrophile pour justement la stabiliser. Toutefois, il semble que cette stabilité puisse avoir lieu lorsque la charge est exposée au solvant.

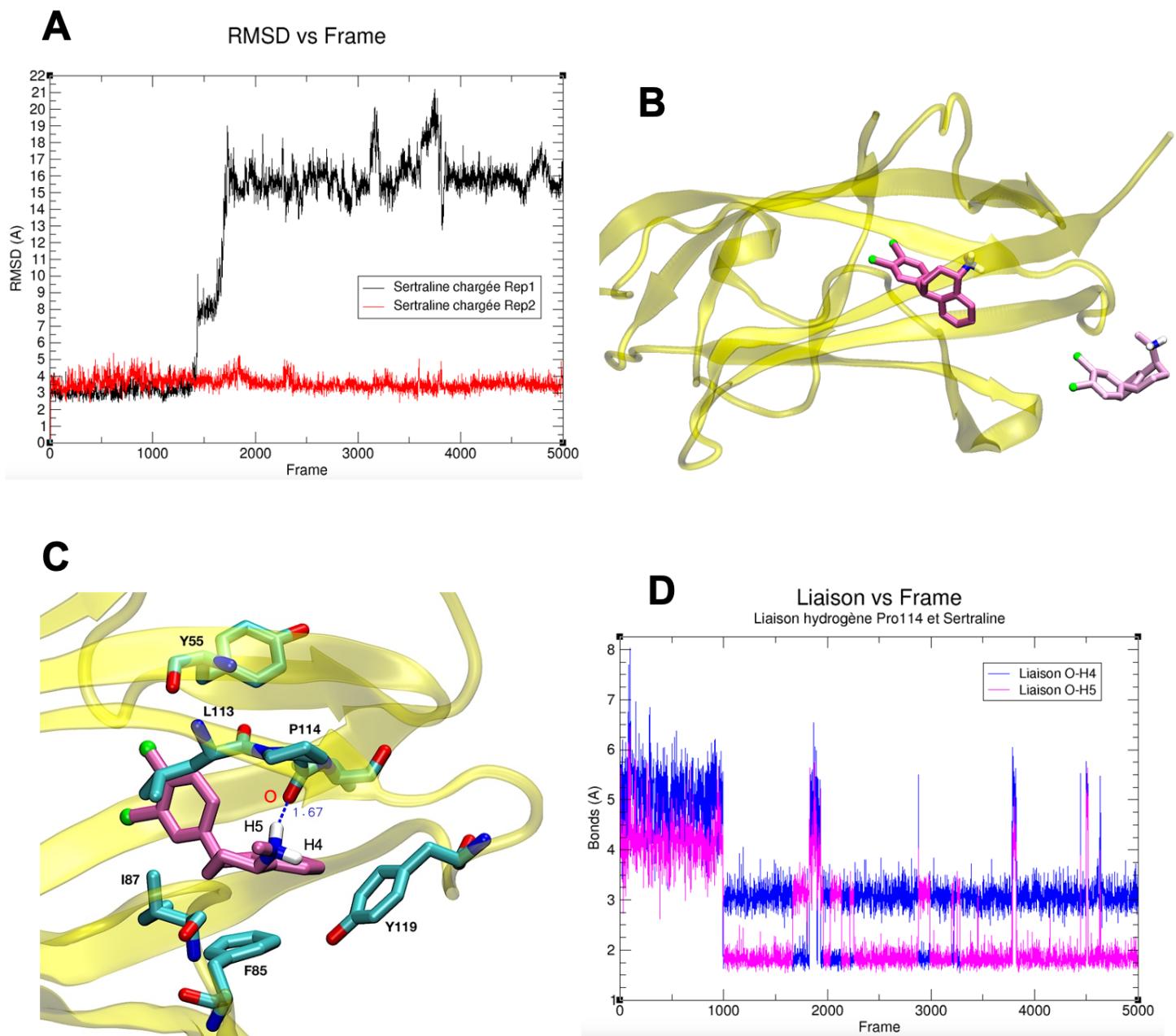


Figure 12 : Évolution du comportement de la Sertraline chargée. Graphe du RMSD des deux réplicas de la Sertraline chargée en fonction du nombre de frames (A). Représentation visuelle de la Sertraline lors du réplica 1 avec sa pose initiale et sa pose finale. Sa pose initiale figure en couleur rose et sa pose finale en rose clair (B). Analyse des interactions entre la Sertraline et NPC2 lors du réplica 2 en fin de simulation (C). Graphe de l'évolution de la distance des liaisons hydrogènes impliquées entre la Sertraline et la Proline114 pour le réplica 2 (D).

Discussion et perspectives

Au cours de nos expériences, nous avons étudié le rôle de la Sertraline et de l'Indatraline et leur potentiel effet inhibiteur de la fixation du cholestérol au niveau de NPC1/NPC2 déclenchant ainsi la mort de cellules cancéreuses. Pour cela, nous avons cherché à déterminer si la fixation de ces deux composés au sein des deux transporteurs se confirmait et si oui, parvenir à une meilleure compréhension d'un point de vue moléculaire de ces fixations.

Pour cela, nous avons basé l'ensemble de nos expériences sur la structure du complexe NPC1/NPC2 entier humain déjà résolue à pH 5.5⁶ et nous avons pu générer la structure 3D de nos deux composés, la Sertraline et l'Indatraline, chargés et non chargés.

En premier lieu, il nous a fallu prédire, par expérience d'amarrage moléculaire, les différents sites de liaisons des deux molécules au sein de NPC1 et NPC2.

En ce sens, nous avons pu déterminer qu'au sein de NPC1, la Sertraline non chargée pouvait se fixer à la fois au NTD et au SSD avec de fortes énergies d'interactions, dont la différence est non significative. Ainsi cela suggère que la Sertraline pourrait bloquer l'export du cholestérol en dehors du lysosome, en se fixant sur l'un de ces deux domaines (ou les deux). Cette hypothèse bien qu'intéressante, reste à être confirmée par réalisation de simulations de dynamique moléculaire ultérieures, car la durée de ce stage n'était pas compatible avec ces travaux.

Pour NPC2, nous avons pu observer pour la Sertraline deux poses de docking intéressantes : une avec les atomes de chlore orientés vers l'extérieur (non chargée) et une seconde, orientés vers l'intérieur de la cavité (chargée et non chargée). Pour ces deux poses, les énergies d'interactions ne présentaient pas de différence significative entre elles et impliquaient de manière générale les mêmes résidus avec majoritairement des interactions hydrophobes.

En second lieu, nous avons donc cherché à évaluer le comportement au cours du temps de nos différents systèmes par simulation de dynamique moléculaire, en commençant par la protéine NPC2 seule. Nous avons alors pu en conclure que le transporteur était extrêmement stable et sa cavité très hydrophobe, cherchant à être la moins exposée au solvant possible. Au vu de ces résultats, cela amène à penser que le cholestérol nécessite d'être proche du transporteur afin que celui-ci s'ouvre et que le cholestérol puisse rentrer dans la cavité et s'y fixer. En effet, la cavité à caractère très hydrophobe ne semble pas rester ouverte en l'absence de ligand à accueillir. Par la suite, nous nous sommes intéressés au complexe NPC2 – Cholestérol, où une forte stabilité de l'interaction a également pu être

établie. De plus, de nombreux résidus en interaction étaient en commun dans les schémas d'interactions entre les stéroïdes et les structures de NPC2 bovins²⁰.

Finalement, après avoir conclu à une stabilité à la fois du transporteur NPC2 seul mais également en présence de son ligand le cholestérol, nous avons pu nous intéresser aux systèmes avec la Sertraline. D'un point de vue global, comme prévu, nous avons pu constater moins de résidus en interaction avec le composé, au vu de sa plus petite taille par rapport au cholestérol. Lorsque nous avons testé la Sertraline dans sa pose avec les atomes de chlore orientés vers l'extérieur de la cavité, étonnamment, le ligand s'est retrouvé complètement retourné en fin de simulation et sur le point de sortir de la cavité. Nous avons alors pu en conclure que la pose la plus favorable pour la Sertraline semblait donc être celle avec ses atomes de chlore orientés vers l'intérieur.

C'est pourquoi nous avons réalisé par la suite des systèmes avec cette pose de docking de la Sertraline, chargée et non chargée, avec NPC2. En présence de la Sertraline non chargée, nous avons pu constater que les deux réplicas étaient plutôt similaires. De nombreuses interactions entre NPC2 et le ligand ont pu être mises en évidence, ce qui confère une stabilité à la Sertraline au sein de la cavité.

En présence du ligand chargé, lors du premier réplica, celui-ci sortait complètement de la cavité, témoignant d'une instabilité totale. Tandis que lors du deuxième réplica, celui-ci était en revanche assez stable avec sa charge complètement orientée vers l'extérieur de la cavité. Au vu de ces résultats, il est donc nécessaire de faire davantage de réplicas pour mieux comprendre le comportement de la Sertraline dans sa forme chargée. En effet, notre jeu de réplicas est trop faible avec $n=2$ et il serait intéressant de le doubler à minima afin d'obtenir un jeu de données statistiquement plus rigoureux et qui nous permettrait de conclure de façon significative à une instabilité ou non.

Cependant, compte tenu de ces premiers résultats, il est possible que même si tout indique que la forme majoritaire de la Sertraline est sa forme chargée au vu de son pKa et du pH des lysosomes, peut-être que la Sertraline viendrait se fixer à NPC2 sous sa forme non chargée. En effet, au cours de cette étude, nous avons travaillé sur un système relativement petit et qui plus est rigide, et nous avons échantillonné de nombreux états. Pour la Sertraline chargée ses deux états se sont retrouvés être tout à fait différents contrairement à sa forme non chargée. En effet, nous avons pu constater que sur ses deux réplicas la Sertraline non chargée se comportait relativement de façon stable, impliquant une liaison hydrogène, des interactions hydrophobes et également une liaison halogène. Même s'il semble que le lysosome est composé d'eau, il serait intéressant de connaître à quel point celle-ci y est accessible. En effet

si ce n'est pas le cas, il ne peut pas y avoir de protonation et donc de charge positive sur la Sertraline.

De plus, des calculs d'énergie libre de liaison entre la Sertraline chargée et non chargée seraient nécessaires pour quantifier l'interaction et voir si une des deux formes est préférée en termes d'énergie libre pour la fixation à ce transporteur.

En outre, il reste également la possibilité d'avoir pour cible NPC1 mais ces simulations n'ont pas encore été réalisées et nécessitent de l'être pour la poursuite de cette étude.

En conclusion, il serait intéressant également de continuer à explorer la perspective de la fixation de l'Indatraline aux transporteurs puisque celle-ci n'a pas pu être testée dans les systèmes de simulation de dynamique moléculaire. Il n'est pas impossible que celle-ci puisse former un complexe extrêmement stable avec NPC2.

Dans la continuité de ces résultats, des expériences d'amarrage moléculaire ont été réalisées avec des nouvelles structures modifiées de la Sertraline à tester, afin de pouvoir la marquer et la suivre dans la cellule. Pour ces structures, un pôle hydrophobe leur a été ajouté à deux endroits différents de la molécule. Cette modification chimique a lieu dans le cadre de l'ajout d'une sonde fluorescente constituée de PEG et de biotine. L'objectif final du projet est ainsi d'explorer toutes les possibilités offertes par ses molécules et ses potentiels dérivés pour lutter contre les cellules cancéreuses et leur propagation.

Bibliographie

1. Alvarez Valadez K. Targeting intracellular cholesterol transport for inducing lysosomal damage and immunogenic cell death in cancer. 2023.
2. Napolitano G, Ballabio A. TFEB at a glance. *J Cell Sci.* 2016 Jul 1;129(13):2475-81.
3. Kwon HJ et al. Structure of N-terminal domain of NPC1 reveals distinct subdomains for binding and transfer of cholesterol. *Cell.* 2009 Jun 26;137(7):1213-24.
4. Goldstein JL et al. Role of lysosomal acid lipase in the metabolism of plasma low density lipoprotein. Observations in cultured fibroblasts from a patient with cholesteryl ester storage disease. *J Biol Chem.* 1975 Nov 10;250(21):8487-95.
5. Li X et al. 3.3 Å structure of Niemann-Pick C1 protein reveals insights into the function of the C-terminal luminal domain in cholesterol transport. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017 Aug 22;114(34):9116-9121.
6. Qian H et al. Structural Basis of Low-pH-Dependent Lysosomal Cholesterol Egress by NPC1 and NPC2. *Cell.* 2020 Jul 9;182(1):98-111.e18.
7. Li X et al. Clues to the mechanism of cholesterol transfer from the structure of NPC1 middle luminal domain bound to NPC2. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016 Sep 6;113(36):10079-84.
8. Gowda R et al. Identifying the structure-activity relationship of leelamine necessary for inhibiting intracellular cholesterol transport. *Oncotarget.* 2017 Apr 25;8(17):28260-28277.
9. Mendez D et al. ChEMBL: towards direct deposition of bioassay data. *Nucleic Acids Res.* 2019 Jan 8;47(D1):D930-D940.
10. Ropp PJ et al. Gypsum-DL: an open-source program for preparing small-molecule libraries for structure-based virtual screening. *J Cheminform.* 2019 May 24;11(1):34.
11. Deák K, Takács-Novák K, Tihanyi K, Noszál B. Physico-chemical profiling of antidepressive sertraline: solubility, ionisation, lipophilicity. *Med Chem.* 2006 Jul;2(4):385-9.
12. Sanner MF. Python: a programming language for software integration and development. *J Mol Graph Model.* 1999 Feb;17(1):57-61.
13. Eberhardt J, Santos-Martins D, Tillack AF, Forli S. AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. *J Chem Inf Model.* 2021 Aug 23;61(8):3891-3898.
14. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem.* 2010 Jan 30;31(2):455-61.

15. Schrödinger, LLC. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 3.0
16. Abraham MJ et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*. 2015;1-2:19-25.
17. Humphrey W, Dalke A, Schulten K. VMD: visual molecular dynamics. *J Mol Graph*. 1996 Feb;14(1):33-8, 27-8.
18. Huang J, MacKerell AD Jr. CHARMM36 all-atom additive protein force field: validation based on comparison to NMR data. *J Comput Chem*. 2013 Sep 30;34(25):2135-45.
19. Vanommeslaeghe K et al. CHARMM general force field: A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields. *J Comput Chem*. 2010 Mar;31(4):671-90.
20. Xu S et al. Structural basis of sterol binding by NPC2, a lysosomal protein deficient in Niemann-Pick type C2 disease. *J Biol Chem*. 2007 Aug 10;282(32):23525-31.
21. Image extraite de « Champ de force (chimie) », Wikipedia, 2009.
22. Image extraite de « Setting up a Molecular Dynamics simulation », CompChems, 2022.
23. Long T et al. Structural basis for itraconazole-mediated NPC1 inhibition. *Nat Commun*. 2020 Jan 9;11(1):152.

Annexes

Figure S1 : Prédiction de l'interaction entre NPC2 et l'Indatraline chargée. L'énergie d'interaction est de -8,126 kcal/mol. Les résidus en interaction les plus importants sont indiqués. L'Indatraline apparaît en couleur beige.

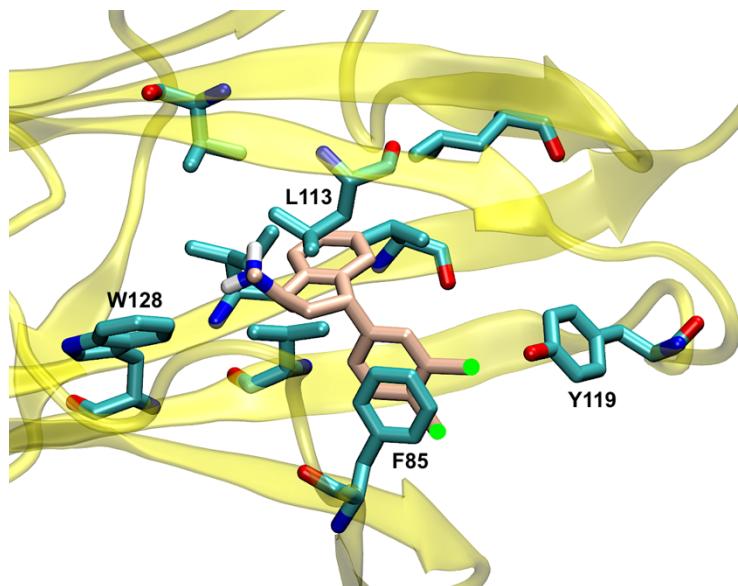


Figure S2 : Analyse, après simulation, des interactions entre NPC2 et la Sertraline non chargée. Les résidus en interaction les plus importants sont indiqués. La Sertraline apparaît en couleur rose. Une liaison hydrogène est fortement probable entre la Tyr119 et la Sertraline car la distance entre les atomes lourds est optimale (en pointillé bleu) mais l'orientation de l'hydrogène ne l'est pas.

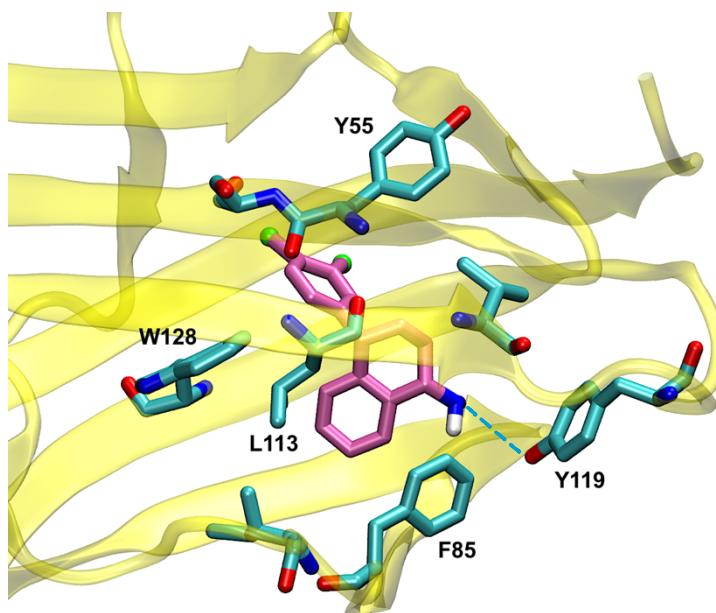


Tableau S1 : Codes SMILES des deux composés

	Codes SMILES
Sertraline	CN[C@H]1CC[C@@H](c2ccc(Cl)c(Cl)c2)c2ccccc21
Indatraline	CN[C@@H]1C[C@@H](c2ccc(Cl)c(Cl)c2)c2ccccc21.Cl

Résumé

Au cours du processus de prolifération et de croissance de la cellule tumorale, cette dernière détourne son environnement voisin à son avantage et le lysosome est un des acteurs participant à ce mécanisme. C'est pourquoi les cellules tumorales sont très sensibles à la disruption de l'intégrité de leur membrane lysosomale et donc à des agents la ciblant. Cette disruption est causée par une accumulation de cholestérol dans les lysosomes menant à la mort des cellules tumorales. Il a été mis en évidence que deux antidépresseurs, la Sertraline et l'Indatraline, pouvait induire cette accumulation en se fixant sur les protéines responsables de l'export du cholestérol, Niemann-Pick type C1 (NPC1) et NPC2. La présente étude porte sur une meilleure compréhension de la fixation de ces composés aux transporteurs et sur les potentiels mécanismes moléculaires impliqués. Nous présentons ici, la découverte par prédition bio-informatique d'une fixation de la Sertraline au SSD de NPC1. Des études de simulation de dynamique moléculaire suggère un complexe stable entre la Sertraline non chargée et NPC2. Tandis que sous sa forme chargée, le résultat n'est que partiellement probant. Ainsi, il semble que la Sertraline non chargée pourrait induire la mort immunogène des cellules cancéreuses en se fixant à NPC2 mais une poursuite de cette étude reste nécessaire pour l'affirmer.

Abstract

During the process of proliferation and growth, tumor cells turn their surrounding environment to their advantage, and the lysosome is one of the players involved in this mechanism. Consequently, tumor cells are highly sensitive to disruption of the integrity of their lysosomal membrane, and therefore to agents targeting it. This disruption is caused by an accumulation of cholesterol in the lysosomes, leading to tumor cell death. Two antidepressants, Sertraline and Indatraline, were shown to induce this accumulation through binding to the proteins responsible for cholesterol export, Niemann-Pick type C1 (NPC1) and NPC2. The present study aims to gain a better understanding of these compounds' binding to transporters and the potential molecular mechanisms involved. Here, we present the discovery by bioinformatics prediction of Sertraline binding to the SSD of NPC1. Molecular dynamics simulation studies suggest a stable complex between uncharged Sertraline and NPC2. In its charged form, however, the results are only partially conclusive. It therefore appears that uncharged Sertraline might induce immunogenic cancer cell death by binding to NPC2, but further study is still required to ascertain this.