

Projet long

Étude des interactions entre microcystines/cyanopeptides émergentes et protéines membranaires : approche combinée biophysique et modélisation moléculaire

Encadrants : Pr Stéphanie Baud, Dr Jean Marc Crowet, Dr Emilie Lance
Université de Reims

Anaïs DELASSUS
Université Paris Cité
M2 BI
2025 – 2026

I. Introduction

Les cyanobactéries sont des micro-organismes photosynthétiques largement répandus dans les écosystèmes aquatiques, en particulier en eau douce. Dans certaines conditions environnementales favorables, telles que l'eutrophisation des milieux, l'augmentation des températures ou la faible dynamique hydrique, elles peuvent proliférer massivement et former des efflorescences appelées *blooms* cyanobactériens. Ces phénomènes constituent un enjeu écologique et sanitaire majeur, notamment en raison de la production de métabolites secondaires bioactifs, regroupés sous le terme de cyanotoxines et de cyanopeptides.

Parmi ces composés, les microcystines sont les plus étudiées, mais de nombreuses autres familles de peptides ont été identifiées au cours des dernières décennies, telles que les microginines, aeruginosines, cyanopeptolines ou microcyclamides. Ces molécules présentent des structures chimiques variées, souvent cycliques, et possèdent une forte activité biologique. Elles sont susceptibles d'affecter un large spectre d'organismes, allant des invertébrés aquatiques aux vertébrés, y compris l'Homme, par ingestion directe ou via la bioaccumulation dans les réseaux trophiques.

Les effets toxiques des cyanotoxines reposent en grande partie sur leurs interactions avec des cibles protéiques spécifiques. Plusieurs études ont montré que certaines cyanotoxines peuvent inhiber des enzymes clés ou interagir avec des protéines membranaires, notamment des transporteurs impliqués dans le passage de molécules à travers la membrane cellulaire. Parmi ces cibles figurent l'angiotensin-converting enzyme (ACE), ainsi que différents transporteurs des familles OATP et ABC. Ces interactions conditionnent l'absorption, la distribution et l'élimination des toxines, et jouent un rôle central dans leur toxicité.

Cependant, les connaissances actuelles présentent plusieurs limites. D'une part, les mécanismes moléculaires précis gouvernant les interactions entre cyanopeptides et protéines restent encore partiellement élucidés. D'autre part, la majorité des données disponibles concerne des protéines humaines ou issues de quelques organismes modèles, alors que de nombreux organismes aquatiques non modèles, notamment les invertébrés, sont fortement exposés à ces toxines. Enfin, peu d'études adoptent une approche comparative inter-espèces intégrant à la fois la conservation des séquences, la localisation membranaire et la plausibilité structurale des interactions.

Dans ce contexte, les approches de bio-informatique et de modélisation moléculaire constituent des outils particulièrement adaptés. L'analyse d'homologie de séquence permet d'identifier des protéines apparentées dans différents protéomes, tandis que les modèles structuraux prédits par AlphaFold offrent un accès inédit à des structures tridimensionnelles de protéines pour lesquelles aucune donnée expérimentale n'est disponible. Enfin, le docking moléculaire permet d'explorer *in silico* les modes de liaison potentiels entre ligands et protéines, et d'évaluer la stabilité et la plausibilité de ces interactions.

L'objectif de ce travail est d'identifier et de caractériser, par des approches de bioinformatique structurale et de modélisation moléculaire, des protéines membranaires susceptibles d'interagir avec différentes cyanopeptides chez des organismes d'intérêt écologique vivant ou se nourrissant en eau douce.

II. Matériel et méthodes

1. Sélection des protéines cibles connus (données de référence)

Une première étape a consisté à identifier, à partir de la littérature scientifique, des protéines rapportées comme cibles ou partenaires d'interaction de cyanopeptides. Cette sélection visait à constituer un ensemble de références biologiquement pertinentes servant de base aux analyses d'homologie et au protocole de docking moléculaire.

Les protéines retenues étaient majoritairement des protéines membranaires impliquées dans le transport ou la reconnaissance de petites molécules, en particulier des transporteurs des familles OATP (SLCO) et ABC, ainsi que l'angiotensin-converting enzyme (ACE). Au total, douze protéines membranaires issues de différents organismes aquatiques ou modèles (notamment l'Homme, le poisson zèbre, la truite arc-en-ciel, le xénope et la moule zébrée) ont été sélectionnées. Les interactions décrites concernaient principalement la microcystine-LR et, dans le cas de l'ACE humaine, la microginin FR1.

Afin d'élargir le spectre fonctionnel et de favoriser l'identification d'homologues, plusieurs protéines non membranaires connues pour interagir avec des cyanopeptides ont également été intégrées, notamment des phosphatases et des protéases. Lorsque l'organisme d'origine n'était pas précisé dans la littérature, des organismes modèles d'enzymologie ont été utilisés à titre indicatif.

Les structures tridimensionnelles utilisées par la suite correspondaient, lorsque disponibles, à des structures expérimentales pour les protéines humaines, et à des modèles prédits par AlphaFold pour les protéines issues d'autres organismes. Cet ensemble de protéines de référence a ainsi permis de disposer d'un cadre cohérent pour les analyses d'homologie et les études de docking moléculaire.

2. Recherche d'homologues membranaires par BLAST local

La recherche d'homologues avait pour objectif d'identifier, chez des organismes exposés aux cyanotoxines en milieu d'eau douce, des protéines apparentées aux cibles de référence et présentant une localisation membranaire compatible avec un rôle dans l'absorption

ou le transport de ces toxines. Pour cela, une approche de BLAST local a été mise en place afin de garantir des alignements reproductibles et indépendants des serveurs en ligne.

Cinq protéomes complets ont été analysés, comprenant trois vertébrés (*Danio rerio*, *Xenopus laevis* et *Rattus norvegicus*) et deux invertébrés aquatiques (*Daphnia magna* et *Dreissena polymorpha*), choisis pour leur pertinence écologique et toxicologique en milieu d'eau douce. Les séquences protéiques de référence ont été utilisées comme requêtes pour des recherches BLASTp contre chacun des protéomes, avec un nombre maximal de 200 cibles par requête et une sortie tabulaire facilitant le traitement automatisé. Le seuil de significativité a été adapté au groupe taxonomique, avec une e-value de 10^{-5} pour les vertébrés et plus permissive (10^{-3}) pour les invertébrés, afin de tenir compte de l'éloignement évolutif.

Les résultats BLAST ont ensuite été filtrés afin de ne conserver que les protéines annotées comme membranaires, en exploitant les annotations UniProt relatives à la localisation subcellulaire et aux termes Gene Ontology associés à la membrane. Pour chaque protéine unique retenue, la fiabilité du modèle structural a été évaluée à partir des prédictions AlphaFold, en calculant le score pLDDT moyen comme indicateur de confiance globale du modèle tridimensionnel.

Les résultats ont été synthétisés sous forme détaillée et non redondante. Après l'ensemble des filtres appliqués, plusieurs dizaines de protéines membranaires uniques ont été identifiées dans chaque protéome, avec une représentation plus importante chez les vertébrés. Une sélection manuelle finale, privilégiant les protéines présentes dans plusieurs organismes, a permis de retenir un ensemble de 17 protéines membranaires distinctes pour les analyses de docking moléculaire ultérieures.

3. Docking moléculaire

3.1 Docking de référence sur protéines connues

Un docking moléculaire de référence a été réalisé sur un ensemble de protéines connues pour interagir avec des cyanotoxines, afin de valider le protocole de docking avant son application aux homologues identifiés. Les protéines étudiées comprenaient l'ACE humaine ainsi que plusieurs transporteurs membranaires (MRP2, OATP1B1, OATP1D1 et OATP1F2) issus de différents organismes.

Les structures protéiques, expérimentales ou prédites par AlphaFold, ont été nettoyées afin de ne conserver que les atomes protéiques, puis converties au format PDBQT à l'aide de Meeko, avec ajout des hydrogènes polaires et attribution des charges AutoDock. Les ligands de référence (microcystine-LR et microginin FR1) ont été générés en 3D à partir de fichiers SDF à l'aide de RDKit, puis convertis en PDBQT.

Le docking a été réalisé en mode blind docking avec AutoDock Vina. Le centre de la boîte de docking correspondait au centre géométrique du récepteur, et la taille de la boîte a été fixée à $24 \times 24 \times 24$ Å pour les enzymes et à $30 \times 30 \times 30$ Å pour les transporteurs. Les paramètres utilisés étaient une *exhaustiveness* de 16, 50 modes, et une résolution de grille de 0,375 Å. Les résultats ont été évalués à partir de l'affinité du meilleur mode et du RMSD inférieur minimal des poses alternatives.

3.2 Docking sur l'ensemble des homologues (approche rapide puis affinée)

Afin de gérer le grand nombre de combinaisons protéine–ligand générées par l'analyse d'homologues (17 protéines, 6 ligands et plusieurs organismes), une stratégie de docking en deux étapes a été mise en place, combinant un criblage rapide suivi d'un raffinement ciblé (docking affiné). Cette approche visait à réduire le coût computationnel tout en conservant une évaluation robuste des interactions les plus prometteuses.

La première étape, dite rapide, avait pour objectif d'explorer rapidement l'ensemble des interactions potentielles et d'éliminer les cas les moins plausibles. Les dockings rapide ont été réalisés en blind docking, avec une boîte de $30 \times 30 \times 30$ Å centrée sur le centre géométrique du récepteur. Les paramètres utilisés comprenaient une exhaustivité de 4, un nombre de modes limité à 10 et un espacement de grille de 0,375 Å. Les résultats ont ensuite été filtrés à l'aide de seuils permissifs, distincts selon le type de protéine : pour les transporteurs membranaires, une affinité inférieure ou égale à $-6,0$ kcal/mol et un RMSD l.b. inférieur ou égal à $4,0$ Å ont été requis, tandis que pour les enzymes, des seuils plus stricts ont été appliqués (affinité $\leq -7,0$ kcal/mol et RMSD l.b. $\leq 2,5$ Å). Ce pré-filtrage a permis de sélectionner un sous-ensemble de complexes susceptibles de correspondre à des interactions biologiquement plausibles.

Les complexes retenus à l'issue de cette première étape ont ensuite été soumis à un docking de confirmation, dit affiné. Cette seconde étape visait à affiner les résultats en augmentant l'échantillonnage conformationnel et la robustesse des scores. Les dockings affinés ont été réalisés avec une boîte de $30 \times 30 \times 30$ Å pour toutes les protéines, une exhaustivité augmentée à 16, un nombre de modes augmenté à 50 et un espacement de grille de 0,375 Å. Les résultats ont été soumis à un filtrage final plus strict : pour les transporteurs, une affinité inférieure ou égale à $-7,0$ kcal/mol et un RMSD l.b. inférieur ou égal à $2,5$ Å ont été requis, tandis que pour les enzymes, les seuils retenus étaient une affinité inférieure ou égale à $-7,5$ kcal/mol et un RMSD l.b. inférieur ou égal à $2,0$ Å.

4. Annotation post-docking

Une étape d'annotation post-docking a été appliquée aux complexes retenus après la phase de docking affiné, afin de relier les scores d'affinité et de stabilité à des caractéristiques structurales et physico-chimiques des ligands et des sites de liaison protéiques.

Les propriétés des ligands ont été calculées à partir de leurs structures SDF à l'aide de la librairie RDKit. Les descripteurs extraits incluaient notamment, la surface polaire topologique (TPSA) et la charge formelle. Des indices normalisés de polarité et de flexibilité ont également été dérivés. Pour les ligands peptidiques, une estimation de la longueur du peptide a été réalisée à partir du nombre de motifs amide, et la topologie globale (cyclique ou linéaire) a été définie manuellement sur la base des structures chimiques connues.

La poche de liaison protéique a été définie à partir des complexes dockés comme l'ensemble des résidus protéiques possédant au moins un atome situé à une distance inférieure ou égale à 4,0 Å d'un atome du ligand. À partir de cette définition, la taille de la poche ainsi que sa composition physico-chimique ont été caractérisées, en estimant le pourcentage de résidus hydrophobes et polaires, ainsi que le nombre de résidus chargés positivement et négativement, permettant d'évaluer la charge nette de la poche.

Cette annotation post-docking a permis d'enrichir l'interprétation des résultats de docking en reliant les interactions favorables observées à des propriétés moléculaires concrètes des ligands et des poches de liaison.

III. Résultats

1. Résultats de la recherche d'homologues par BLAST

La recherche d'homologues protéiques réalisée à partir des protéines cibles de référence a permis d'identifier, après l'ensemble des étapes de filtrage (significativité statistique, localisation membranaire et qualité structurale), un nombre variable de protéines membranaires selon les organismes étudiés. Chez les vertébrés, 31 protéines membranaires uniques ont été identifiées chez *Danio rerio* (poisson zèbre), 33 chez *Xenopus laevis* et 52 chez *Rattus norvegicus*. Chez les invertébrés, le nombre de candidats était plus limité, avec 12 protéines chez *Dreissena polymorpha* (moule d'eau douce) et 13 chez *Daphnia magna*. Cette différence est cohérente avec l'éloignement évolutif plus important entre les invertébrés et les protéines de référence, majoritairement issues de vertébrés, conduisant à une détection plus restreinte d'homologues significatifs.

Afin de poursuivre les analyses de docking sur un ensemble de cibles biologiquement pertinentes et comparables entre espèces, une sélection finale a été réalisée en retenant uniquement les protéines membranaires communes à au moins deux organismes. Cette étape a conduit à l'identification de 17 protéines distinctes, appartenant principalement aux familles des transporteurs ABC et OATP, ainsi qu'à quelques enzymes transmembranaires. Ces protéines représentent des cibles potentielles conservées à travers plusieurs espèces exposées aux cyanotoxines en milieu d'eau douce. La liste complète des protéines retenues, avec leurs identifiants UniProt et leur distribution par organisme, est présentée en annexe A.

2. Validation du docking sur protéines de référence

Les simulations de docking moléculaire réalisées sur les protéines de référence ont permis de valider la capacité de l'approche à reproduire des interactions connues entre cyanotoxines et protéines cibles. Les résultats sont synthétisés dans le tableau 1, présentant pour chaque complexe la meilleure affinité estimée par AutoDock Vina ainsi que le RMSD inférieur minimal des poses alternatives.

Protéine	Ligands	Affinité (kcal/mol)	Min l.b. RMSD (Å)
ACE humain	Microginin-FR1	-9.782	1.141
MRP2 humain	MC-LR	-7.831	2.208
OATP1B1 humain	MC-LR	-8.351	1.716
OATP1D1 truite arc-en-ciel	MC-LR	-8.059	2
OATP1D1 poisson zèbre	MC-LR	-6.628	1.68
OATP1F2 poisson zèbre	MC-LR	-8.332	2.511

Tableau 1 : Résultat docking des interactions protéine-cyanotopeptides connues

L'interaction la plus favorable a été observée entre l'angiotensin-convertant enzyme humaine (ACE) et la microginine FR1, avec une affinité de -9.78 kcal/mol et un RMSD l.b. de 1.14 Å, indiquant une interaction forte associée à une pose très stable et bien définie. Ce résultat est cohérent avec le caractère enzymatique de la cible, dont le site actif est généralement rigide et spécifique. Pour les transporteurs membranaires, des affinités comprises entre -6.6 et -8.4 kcal/mol ont été observées pour la microcystine-LR. Le transporteur OATP1B1 humain et OATP1F2 du poisson zèbre présentent des affinités élevées (respectivement -8.35 et -8.33 kcal/mol), associées à des RMSD modérés (≈ 2 Å), suggérant des interactions crédibles compatibles avec un mécanisme de transport. À l'inverse, l'interaction avec OATP1D1 du poisson zèbre apparaît plus faible (-6.63 kcal/mol), bien que la pose reste relativement stable, ce qui pourrait refléter une interaction moins spécifique ou plus transitoire.

Dans l'ensemble, les valeurs de RMSD l.b. observées, majoritairement inférieures à 2.5 Å, indiquent une convergence raisonnable des poses dockées autour de la meilleure solution. Ces résultats confirment la pertinence du protocole de docking mis en place et justifient son application à l'ensemble des protéines homologues identifiées par BLAST.

3. Docking rapide : analyse globale des affinités ligand-protéine

Le docking rapide a été réalisé sur 336 modèles protéine-ligand (17 protéines \times 6 ligands \times plusieurs organismes), afin d'explorer rapidement les interactions potentielles entre

cyanotoxines et protéines candidates. Les résultats sont synthétisés en Figure 1, sous forme d'une heatmap d'affinité moyenne (kcal/mol), où les valeurs les plus négatives correspondent aux interactions les plus favorables. La liste des protéines retenues et leur distribution par organisme est détaillée en Annexe A, et la heatmap regroupée par organisme est présentée en Annexe B.

Globalement, trois ligands se distinguent par des affinités plus favorables que les autres : l'aeruginosin 98A, la microcystine-LR et la microginin FR1, l'aeruginosin 98A présentant en moyenne les valeurs les plus négatives (Figure 1). À l'inverse, la cyanopeptoline A, l'aerucyclamide A et la microcyclamide 7806B montrent des affinités globalement moins favorables.

Du côté des protéines, les transporteurs de la famille ABCG, ainsi que CFTR et SLCO1C, présentent une affinité globale légèrement plus favorable vis-à-vis des cyanopeptides, suggérant un potentiel d'interaction plus marqué (Figure 1). L'analyse par organisme (Annexe B) confirme ces tendances générales, et suggère des affinités légèrement plus favorables pour les protéines issues de la moule d'eau douce. Ces résultats doivent néanmoins être interprétés avec prudence : le docking rapide constitue une étape préliminaire qualitatif, destiné à établir un ordre de grandeur et à orienter la sélection des complexes soumis au docking affiné.

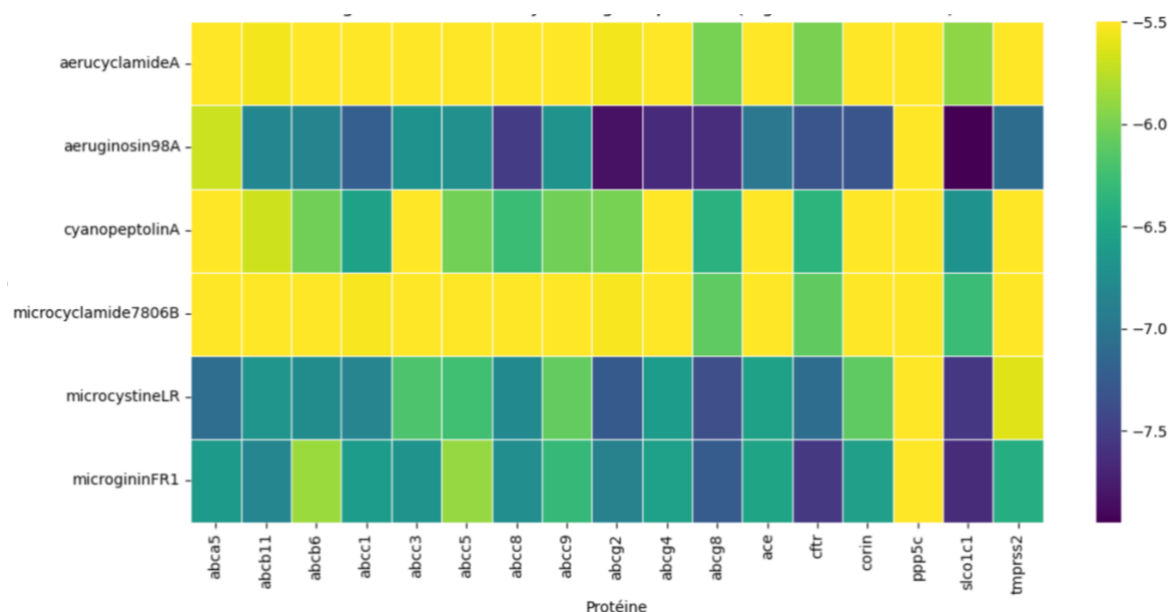


Figure 1 : Heatmap de l'affinité moyenne par couple protéine-ligand après 1er docking rapide

4. Docking affiné : interactions favorables retenues

À l'issue de l'étape de docking affiné, appliquée aux complexes présélectionnés lors du docking rapide, 64 complexes protéine-ligand ont été retenus comme présentant des

interactions favorables selon les seuils stricts d'affinité et de RMSD définis, soit 19% des complexes protéine-ligand. La répartition de ces complexes selon le ligand est présentée en Figure 2.

Cette distribution montre que les interactions favorables sont majoritairement portées par trois ligands principaux : aeruginosin 98A, microcystine-LR et microginin FR1, qui représentent l'essentiel des complexes retenus. La cyanopeptoline A ne présente qu'un nombre limité d'interactions favorables, tandis que la microcyclamide 7806B et l'aerucyclamide A ne montrent aucune interaction retenue après le docking affiné. Cela suggère une affinité globale plus faible et/ou des interactions moins stables avec les protéines étudiées.

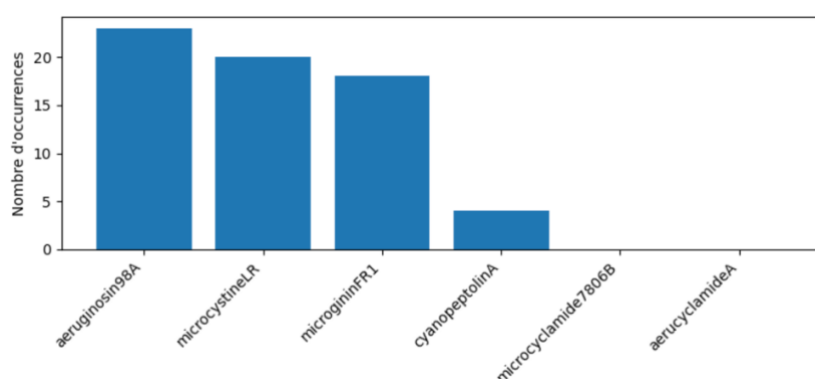


Figure 2 : Répartition de ligands avec interactions favorables

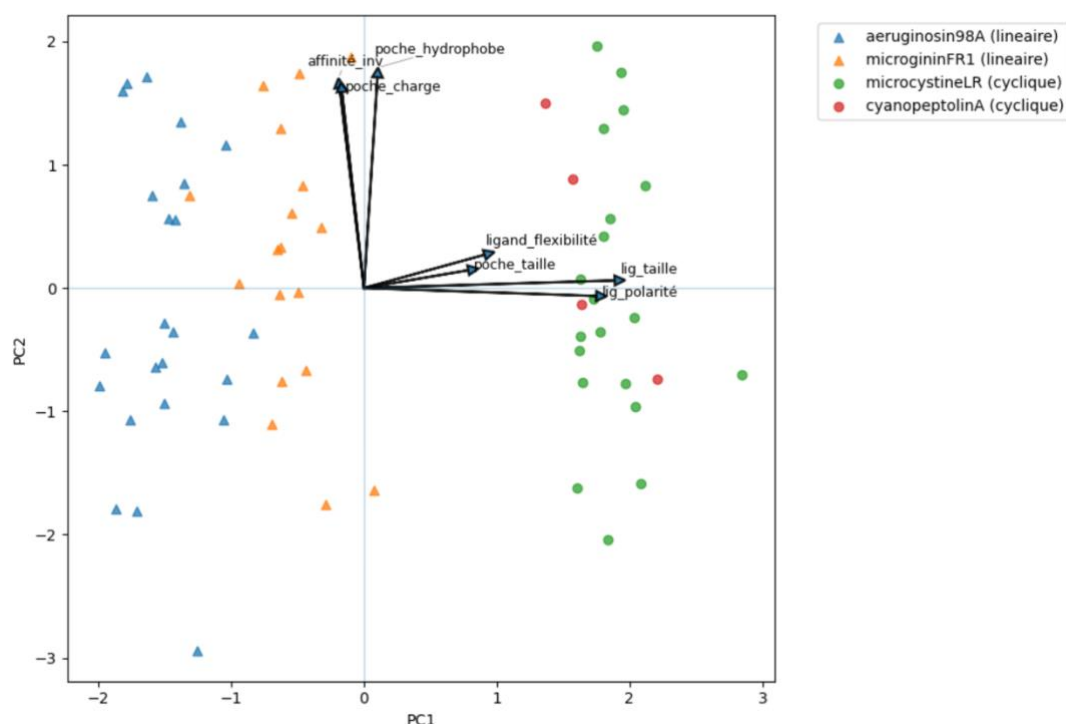


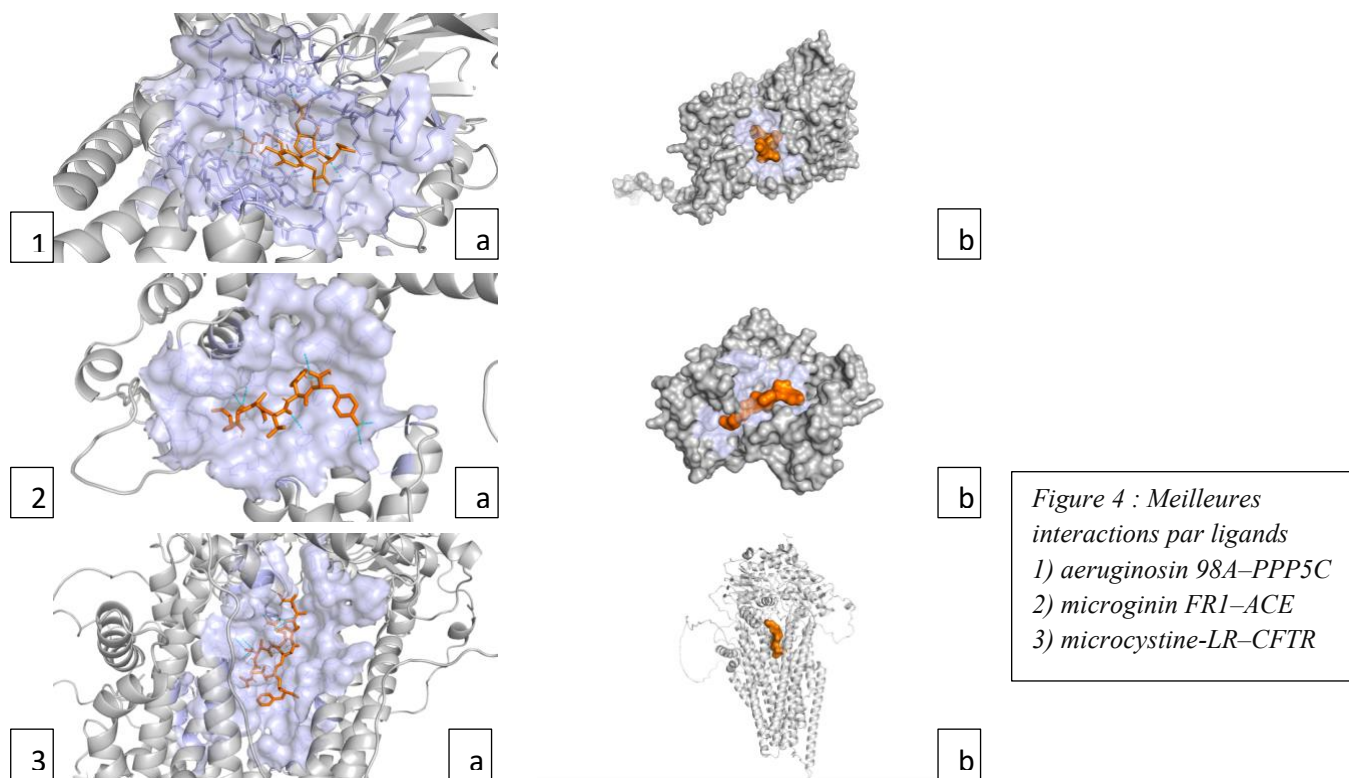
Figure 3 : PCA des ligands ayant une interaction favorable

Afin d'explorer les relations entre les propriétés des ligands, les caractéristiques des poches de liaison et la favorabilité des interactions, une analyse en composantes principales (PCA) a été réalisée sur les 64 complexes avec interaction favorable (Figure 3).

La première composante principale (PC1) est principalement associée aux propriétés des ligands, en particulier leur taille, leur polarité et leur flexibilité, ainsi qu'à la taille de la poche de liaison. Les ligands cycliques, tels que la microcystine-LR, se projettent du côté positif de PC1, tandis que les ligands linéaires, comme l'aeruginosin 98A et la microginin FR1, se regroupent du côté négatif, traduisant des interactions impliquant des ligands plus compacts.

La seconde composante (PC2) est dominée par la favorabilité de l'interaction, en lien avec l'affinité, l'hydrophobicité et la charge de la poche. Les complexes les plus favorables sont associés à des poches modérément hydrophobes et globalement chargées positivement. En moyenne, les poches des interactions favorables présentent environ 40 % de résidus hydrophobes et une charge nette moyenne d'environ +1,25, indiquant des poches amphipathiques à légère dominance positive. Les valeurs moyennes détaillées de taille, de composition hydrophobe et de charge des poches de liaison par ligand sont présentées en Annexe D. La PCA suggère néanmoins que, au sein de ces poches amphipathiques, une hydrophobicité relative plus élevée est associée aux meilleures affinités de liaison. La distribution détaillée des affinités moyennes par couple ligand–protéine pour les complexes retenus après docking affiné est présentée en Annexe C, et illustre la variabilité des interactions au sein des familles de transporteurs et d'enzymes considérées.

Les complexes illustrés correspondent aux meilleures associations identifiées pour chacun des trois ligands majoritaires. Il s'agit du complexe aeruginosin 98A–PPP5C (*protein phosphatase 5 catalytic subunit*) chez la moule d'eau douce, du complexe microginin FR1–ACE (*angiotensin-converting enzyme*) chez la daphnie, et du complexe microcystine-LR–CFTR (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) chez le poisson zèbre.



Ces complexes présentent des affinités de liaison élevées, avec des valeurs respectives de $-9,781$ kcal/mol, $-8,853$ kcal/mol et $-8,325$ kcal/mol. L'analyse structurale met en évidence plusieurs liaisons hydrogène stabilisantes, avec respectivement 9, 8 et 7 liaisons hydrogène observées à une distance inférieure à $3,5$ Å, en accord avec la forte favorabilité des interactions prédites par docking.

IV. Discussion

Ce travail a permis d'explorer, par une approche intégrative de bio-informatique et de modélisation moléculaire, les interactions potentielles entre plusieurs cyanotoxines/cyanopeptides et des protéines membranaires chez différents organismes exposés aux environnements d'eau douce. En combinant recherche d'homologues, docking moléculaire hiérarchisé (rapide puis affiné) et analyses physico-chimiques des ligands et des poches de liaison, cette étude fournit une première cartographie comparative des interactions potentielles cyanotoxines et protéines membranaires conservées.

Les résultats du docking de référence confirment la pertinence du protocole utilisé, avec des affinités et des RMSD cohérents avec des interactions décrites dans la littérature, notamment pour le couple ACE–microginin FR1 et pour plusieurs transporteurs OATP et ABC interagissant avec la microcystine-LR. Cette validation était essentielle avant l'application du protocole à un ensemble élargi de protéines homologues issues de différents organismes.

L'étape de docking rapide, appliquée à 336 modèles protéine–ligand, a permis de dégager des tendances globales. Trois ligands — aeruginosin 98A, microcystine-LR et microginin FR1 — se distinguent par des affinités moyennes plus favorables que les autres cyanopeptides étudiés, suggérant un potentiel d'interaction plus marqué avec les protéines membranaires sélectionnées. Ces tendances sont globalement conservées lorsqu'on considère les résultats par organisme, bien que cette analyse reste qualitative et destinée principalement à orienter la sélection des complexes pour le docking affiné.

Le docking affiné a ensuite permis d'identifier un ensemble restreint de complexes présentant des interactions favorables selon des critères stricts d'affinité et de stabilité. L'analyse multivariée par PCA met en évidence que ces interactions favorables reposent sur un compromis entre les propriétés des ligands et celles des poches de liaison. Les poches impliquées sont en moyenne amphipathiques, avec environ 40 % de résidus hydrophobes et une charge nette légèrement positive ($\approx +1,25$), ce qui est cohérent avec la nature chimique des cyanotoxines étudiées, à la fois polaires et hydrophobes. La PCA suggère toutefois qu'une hydrophobicité relative plus élevée au sein de ces poches amphipathiques est associée aux meilleures affinités de liaison.

Un point notable de cette étude est la mise en évidence d'interactions favorables chez des organismes invertébrés, en particulier chez la moule d'eau douce. Les résultats suggèrent

que certaines protéines de cet organisme pourraient interagir de manière relativement forte avec des cyanopeptides, ce qui est cohérent avec le mode de vie filtreur des moules et leur capacité connue à accumuler des cyanotoxines. Ces observations renforcent l'intérêt d'étendre les études de toxicité au-delà des organismes modèles vertébrés et soulignent l'importance écologique des invertébrés aquatiques dans la dynamique des cyanotoxines.

Néanmoins, plusieurs limites doivent être soulignées. Une grande partie des structures protéiques utilisées repose sur des modèles prédits par AlphaFold. Bien que les scores pLDDT aient été utilisés pour prioriser les modèles les plus fiables, ces structures restent des prédictions et peuvent présenter des incertitudes locales, en particulier au niveau des boucles ou des régions transmembranaires flexibles. De plus, le docking moléculaire fournit une estimation statique et approximative des interactions, qui ne prend pas en compte explicitement la dynamique des protéines, l'environnement membranaire réel, ni les effets de solvant de manière détaillée. Les affinités calculées doivent donc être interprétées comme des indicateurs relatifs de favorabilité, et non comme des valeurs quantitatives absolues.

Enfin, cette étude s'inscrit dans une démarche exploratoire visant à combiner des approches de bioinformatique structurale et de modélisation moléculaire pour l'étude des interactions entre cyanotoxines et protéines membranaires chez des organismes d'eau douce. Les résultats obtenus constituent une base de travail susceptible de contribuer à de futures analyses en bioinformatique structurale appliquée à la toxicologie. Ils permettent de formuler des hypothèses biologiques qui devront être confirmées par des approches complémentaires, notamment des simulations de dynamique moléculaire, des études fonctionnelles de transport ou d'inhibition enzymatique, ainsi que des expérimentations en biophysique membranaire et en toxicologie.

V. Conclusion

Ce travail a permis d'identifier et de caractériser un ensemble de protéines membranaires susceptibles d'interagir avec différentes cyanotoxines et cyanopeptides chez des organismes vivant ou se nourrissant en eau douce, à partir d'une approche intégrative combinant analyse d'homologie, modélisation structurale et docking moléculaire.

La recherche d'homologues par BLAST local, suivie d'un filtrage fonctionnel et structural, a conduit à la sélection de dix-sept protéines membranaires conservées entre plusieurs espèces. Le protocole de docking mis en place, validé sur des protéines de référence, a ensuite permis de cribler un grand nombre de complexes protéine–ligand, puis d'identifier un sous-ensemble d'interactions favorables à l'issue de la phase de docking affiné.

Les résultats mettent en évidence une affinité globale plus marquée pour trois ligands principaux — aeruginosin 98A, microcystine-LR et microginin FR1 — ainsi que le rôle potentiel de poches de liaison amphipathiques, modérément hydrophobes et légèrement

chargées positivement, dans la stabilisation des complexes. L'analyse multivariée suggère que la combinaison des propriétés des ligands et des caractéristiques des poches de liaison conditionne la favorabilité des interactions observées.

Dans l'ensemble, cette étude fournit un cadre méthodologique cohérent pour l'exploration *in silico* des interactions entre cyanotoxines et protéines membranaires, et ouvre la voie à des travaux complémentaires en bioinformatique structurale et en toxicologie. Les hypothèses formulées à partir de ces résultats devront être approfondies et validées par des approches expérimentales et dynamiques afin de mieux comprendre les mécanismes d'interaction et les implications biologiques associées.

VI. Bibliographie

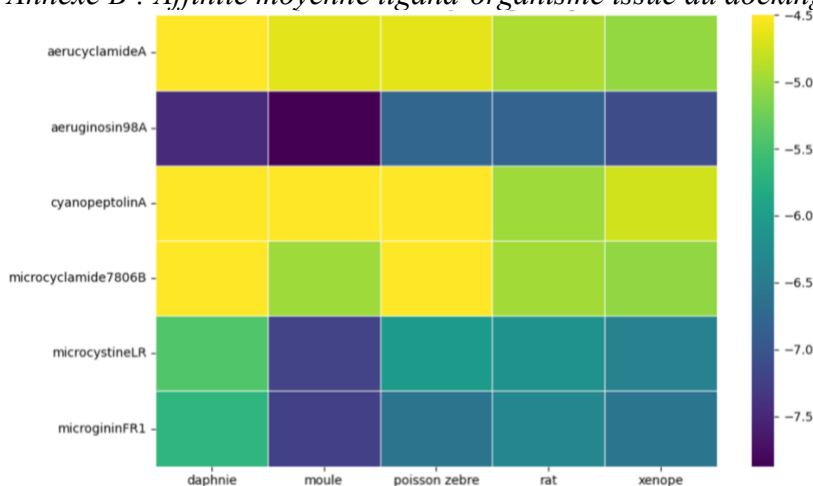
- Carmichael WW. Health effects of toxin-producing cyanobacteria: “The CyanoHABs”. *Human and Ecological Risk Assessment*. 2001;7(5):1393–1407.
- Chorus I, Bartram J. Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management. *World Health Organization*; 1999.
- Dietrich D, Hoeger S. Guidance values for microcystins in water and cyanobacterial supplement products (blue-green algal supplements): a reasonable or misguided approach? *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2005;203(3):273–289.
- Fischer A, Hoeger SJ, Stemmer K, Feurstein DJ, Knobeloch D, Nussler A, Dietrich DR. The role of organic anion transporting polypeptides (OATPs/SLCOs) in the toxicity of microcystins. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2010;245(1):9–20.
- Hitzfeld BC, Höger SJ, Dietrich DR. Cyanobacterial toxins: removal during drinking water treatment, and human risk assessment. *Environmental Health Perspectives*. 2000;108(Suppl 1):113–122.
- Ibelings BW, Chorus I. Accumulation of cyanobacterial toxins in freshwater “seafood” and its consequences for public health: a review. *Environmental Pollution*. 2007;150(1):177–192.
- Merel S, Walker D, Chicana R, Snyder S, Baurès E, Thomas O. State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins. *Environment International*. 2013;59:303–327.
- Pflugmacher S. Promotion of oxidative stress in aquatic organisms by cyanotoxins. *Environmental Toxicology*. 2002;17(2):139–148.
- Sivonen K, Jones G. Cyanobacterial toxins. In: *Toxic Cyanobacteria in Water*. WHO; 1999. p. 41–111.
- Spoof L, Catherine A. Appendix 3: Tables of microcystins and nodularins. In: *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*. Wiley; 2017.
- Welker M, von Döhren H. Cyanobacterial peptides — nature’s own combinatorial biosynthesis. *FEMS Microbiology Reviews*. 2006;30(4):530–563.
- Zurawell RW, Chen H, Burke JM, Prepas EE. Hepatotoxic cyanobacteria: a review of the biological importance of microcystins in freshwater environments. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*. 2005;8(1):1–37.
- Feurstein D, Holst K, Fischer A, Dietrich DR. Microcystin congener- and concentration-dependent effects on murine hepatocytes. *Chemical Research in Toxicology*. 2009;22(6):1084–1092.
- Runnegar MTC, Kong S-M, Zhong Y-Z, Ge J-L, Lu S-C. Involvement of bile acid transporters in the hepatotoxicity of microcystins. *FEBS Letters*. 2006;580(24):5863–5868.

Annexes

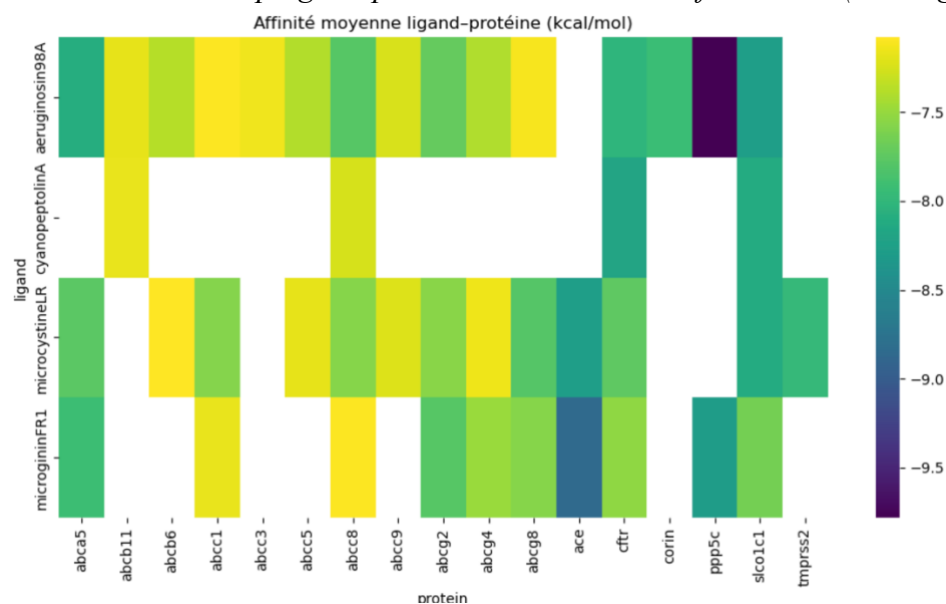
Annexe A : Protéines membranaires retenues après filtrage BLAST et leur distribution par organisme

A	B	C	D	E	F	G
Nom de la protéine	Gene	Poisson zebre	Xenope	Rat	Dreissna	Daphnia
Cholesterol transporter ABCA5	abca5	F1QEL5		Q8CF82		
Bile salt export pump	abcb11	A0A8M1RNN7		O70127		
ATP-binding cassette sub-family B member 6	abcb6	A0A2R8RXI2	A0A974BZ57	O70595	A0A9D4C210	A0A0P5Z0R9
Multidrug resistance-associated protein 1	abcc1	A0AB32TKI2	A0A974H1Z4	Q8CG09		
ABC-type glutathione-S-conjugate transporter	abcc3	A0A8M3AY17	A0A8J1LS54	A6HI46		
ATP-binding cassette sub-family C member 5	abcc5	E1B2R7	A0A8J1KPA1	Q9QYM0		
ATP-binding cassette sub-family C member 8	abcc8	F1QMZ9	A0A974D2X0	Q09429		
ATP-binding cassette sub-family C member 9	abcc9	A0A8M2BBT3	A0A974D9F1	Q63563		
Broad substrate specificity ATP-binding cassette transporter	abcg2	A0A8M9PT70	A1L2M4	Q80W57		
ATP-binding cassette transporter sub-family G member 4	abcg4	A2BFT1	A0A1L8FLG8	A0A8I5X242		A0A0P5I7T7
ATP-binding cassette sub-family G member 8	abcg8	A0A8M1NFQ3	A0A974CQ96	P58428		A0A482DHK9
Angiotensin-converting enzyme	ace	E7FFA5	A0A8J1LQW2	P47820	A0A9D4JVX8	A0A162QEV1
Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator	cfr	Q1LX78	P26363	A0A8I6AU15		
Atrial natriuretic peptide-converting enzyme	corin	A0A8M3AP01		Q80YN4		
Serine/threonine-protein phosphatase	ppp5c	F6NMN3	A0A8J0TKL1	P53042	A0A9D4L4I9	A0A4Y7MGA2
Solute carrier organic anion transporter family member 1C1	slco1c1	B3DJD4	A0A1Z2R906	Q9EPZ7		
Transmembrane protease serine 2	tmprss2	Q5PRA6	A0A8J1M6Y1	Q6P7D7		

Annexe B : Affinité moyenne ligand-organisme issue du docking rapide



Annexe C : Heatmap ligand-protéine des interactions favorables (docking affiné)



Annexe D : Moyenne de taille, de pourcentage d'acides aminés hydrophobes, et de charge des poches de liaison

	poche_taille	poche_hydrophobe	poche_charge
ligand			
aeruginosin98A	56.78	37.58	1.22
cyanopeptolinA	68.25	42.00	2.00
microcystineLR	62.00	38.12	0.75
microgininFR1	55.22	39.84	1.67