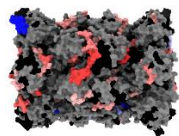


ProteasoRegMS



Spectrométrie de masse structurale pour étudier le dialogue entre les mécanismes de régulation des complexes du protéasome

RESUME :

Le protéasome est très diversifié en termes de composition de sous-unités du cœur catalytique 20S, de modifications post-traductionnelles et de liaison à différents régulateurs (PA28 $\alpha\beta$ ou PA28 γ). Le projet ProteasoRegMS a permis de développer et d'utiliser de nouvelles approches de spectrométrie de masse (MS) pour étudier cette diversité dans le contexte de l'inflammation, comprendre comment la diversité structurale du protéasome peut induire différentes réponses intracellulaires et rechercher de nouveaux inhibiteurs de protéasome spécifiques d'un sous-type.

OBJECTIFS :

Une première partie du projet visait à explorer par des approches innovantes de protéomique la diversité du protéasome dans le contexte de l'inflammation, celle-ci étant connue pour induire la production de l'immunoprotéasome. Dans un second temps, nous avons utilisé l'échange Hydrogène-Deutérium couplé à la MS (HDX-MS) pour comprendre comment l'insertion de différentes sous-unités catalytiques peut favoriser l'interaction avec différents régulateurs. La dernière partie du projet visait à mieux comprendre l'inhibition du protéasome et à cribler de nouvelles molécules spécifiques. Nous avons comparé par HDX-MS les effets structuraux d'inhibiteurs non spécifiques et spécifiques. Puis nous avons criblé plus de 3 000 molécules afin d'obtenir des inhibiteurs plus spécifiques du protéasome.

CARACTERE INNOVANT :

Ce projet a permis de mettre en place des méthodologies innovantes de spectrométrie de masse structurale pour mieux comprendre les différents mécanismes de régulation du protéasome, et d'identifier une nouvelle génération d'inhibiteurs du protéasome spécifiques de leurs régulateurs.

RESULTATS A DATE :

- Meilleure description des différents sous-types de protéasomes à partir d'un vaste panel d'échantillons biologiques : protéasome commercial ou immunopurifié à partir de lignées cellulaires, d'organoïdes ou de biopsies.
- Comparaison de l'accessibilité au solvant des protéasomes standard (std20S) et immuno (i20S) seuls et en complexe avec les activateurs PA28 $\alpha\beta$ ou PA28 γ , démontrant que les modifications des sous-unités catalytiques pouvaient altérer de manière allostérique la surface externe du 20S, fournissant une explication rationnelle pour l'interaction différentielle avec ces régulateurs.
- Identification de nouveaux inhibiteurs du protéasome, spécifiques des régulateurs PA28 $\alpha\beta$ ou PA28 γ .

FAITS MARQUANTS :

Un projet de valorisation de ces résultats a été mené avec Toulouse Tech Transfert (TTT) et a permis d'identifier de nouveaux inhibiteurs. Ce projet, en particulier le savoir-faire acquis pour l'analyse combinée des protéoformes de protéasome 20S par protéomique top-down et bottom-up conduit à un nouveau projet collaboratif financé par AXA sur les mutations du protéasome impliquant des troubles neurodéveloppementaux ou auto inflammatoires.



AAP : ANR JCJC 2019

Date de début / de fin : octobre 2019 / Décembre 2023

Budget global : 747 089 €

Aides publiques : 247 860 €

Valorisation :

- 1 emploi créé (CDD)
- 4 publications publiées dont 1 revue
- 1 publication en cours d'écriture
- 13 communications orales dont 10 à l'international
- 4 communications par poster

Contact :

Julien MARCOUX, CR CNRS
julien.marcoux@ipbs.fr

Ces résultats présentés à différents congrès internationaux, notamment au workshop EMBO « The 20S proteasome degradation pathway » (Weizmann Institute, Israël, janvier 2023) et à l'ASMS (Houston, USA), nous ont ouvert de nouvelles perspectives en termes de collaborations nationales et internationales.

CONSORTIUM ET COMPETENCES CLES :

IPBS (Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale) - Centre de recherche CNRS-Université de Toulouse : identification, caractérisation et exploitation de nouvelles cibles thérapeutiques dans les domaines du cancer, des infections et de l'inflammation.