



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

Université Frères Mentouri Constantine 1

جامعة الأخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

**Intitulé : Application du programme de docking moléculaire Surflex pour la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de la protéine chaperonne Hsp90**

Présenté et soutenu par : Seif Eddine Temsi

Soutenu le : 22/06/2023

Oussama Hammim

Jury d'évaluation :

- Président du jury : Mr Chikhi Abdelouahab (Professeur)
- Rapporteur : Mr Bensegueni Abderrahmane (Professeur)
- Examineur : Mr Mokrani El Hassen (Maître de Conférences A)

Année universitaire : 2022-2023

## Remerciements :

Tout d'abord merci beaucoup dieu de nous donner la patience et la force et le courage pour compléter ce travail.

Il nous est agréable d'exprimer notre plus profonde gratitude et remerciement le plus sincère à notre encadreur Bensegueni Abderrahmane pour son aide, ses orientations judicieuses, patience et sur tout sa confiance.

C'est avec un grand plaisir que nous remercions Mr Chikhi Abdelouahab pour l'honneur qu'il nous fait en présidant le jury de ce mémoire.

Et nous tenons à adresser notre profonde gratitude et notre grand reconnaissance et remerciement à Mr Mokrani El Hassen d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons aussi à remercier tous les enseignants qui nous ont transmis notre savoir actuel tout au long de notre cursus.

## **Résumé :**

**Application du programme de docking moléculaire Surflex pour la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de la protéine chaperonne Hsp90**

**Dans le but de découvrir de nouveaux composés avec un meilleur effet inhibiteur que le composé yke qui affecte 2yke (hsp90), une enzyme impliquée dans le cancer , le programme d'amarrage moléculaire Surflex a été utilisé pour aider à développer des molécules à activité thérapeutique, puisque nous avons obtenu une moyenne de Valeurs RMSD inférieures ou égales à Å 2 de 77%, où la performance du programme Surflex a été prouvée. Ce test a été suivi d'une analyse visuelle du mécanisme d'amarrage des composés de référence et de ceux obtenus par docking moléculaire.**

**Un criblage virtuel a été réalisé sur 178 molécules avec un taux de similarité de 91% avec nos composés de référence que nous avons téléchargés depuis la chimiothèque « PubChem » afin d'évaluer leur affinité envers 2yke M<sup>-1</sup> .**

**Les résultats du criblage virtuel par le logiciel Surflex nous ont permis de choisir le top 3 des composés pouvant être proposés comme les meilleurs inhibiteurs de la cible thérapeutique 2yke, et nous avons fait une analyse détaillée des différentes interactions.**

**Enfin, l'application de la règle de Lipinski nous renseigne de manière positive sur les propriétés physico-chimiques de ces nouvelles molécules ainsi que sur leur biodisponibilité orale en tant que médicament qui ne posera aucun problème.**

**Il est nécessaire de vérifier et de valider nos résultats théoriques par une étude expérimentale in vitro et/ou in vivo.**

**Mots clés : docking moléculaire, criblage virtuel, Surflex, RMSD, 2yke, cancer, inhibition, Lipinski.**

## **Abstract :**

**Application of the Surflex molecular docking program for the identification of new inhibitors of the chaperone protein Hsp90**

**In an effort to discover new compounds with a better inhibitory effect than the compound yke which affects 2yke (hsp90), an enzyme implicated in cancer, the Surflex molecular docking program was used to help develop molecules with therapeutic activity , since we have obtained an average of RMSD values less than or equal to Å 2 of 77%, where the performance of the Surflex program has been proven. This test was followed by a visual analysis of the docking mechanism of the reference compounds and those obtained by molecular docking.**

**A virtual screening was carried out on 178 molecules with a similarity rate of 91% with our reference compounds that we downloaded from the “PubChem” chemical library in order to evaluate their affinity towards 2yke M<sup>-1</sup>**

**The results of the virtual screening by the Surflex software allowed us to choose the top 3 compounds that can be proposed as the best inhibitors of the therapeutic target 2yke, and we made a detailed analysis of the different interactions.**

**Finally, the application of Lipinski's rule gives us positive information on the physico-chemical properties of these new molecules as well as on their oral bioavailability as a drug which will not pose any problem.**

**It is necessary to verify and validate our theoretical results by an experimental study in vitro and/or in vivo.**

**Keywords: molecular docking, virtual screening, Surflex, RMSD, 2yke, cancer, inhibition, Lipinski.**

## الملخص

تطبيق الالتحام الجزيئي بواسطة برنامج SURFLEX لتطوير مثبّطات جديدة ل Hsp90 chaperonne

في محاولة لاكتشاف مركبات جديدة ذات تأثير مثبّط أفضل من مركب yke الذي يؤثر على 2 yke (hsp90) ، وهو إنزيم متورط في السرطان ، تم استخدام برنامج Surfex للالتحام الجزيئي للمساعدة في تطوير الجزيئات ذات النشاط العلاجي ، حيث حصلنا على متوسط من قيم RMSD أقل من أو تساوي 2 من 77٪ ، حيث تم إثبات أداء برنامج Surfex. تبع هذا الاختبار تحليل مرني لآلية الالتحام للمركبات المرجعية وتلك التي تم الحصول عليها عن طريق الالتحام الجزيئي.

تم إجراء فحص افتراضي على 178 جزيئة بمعدل تشابه بنسبة 91% إلى مركباتنا المرجعية التي قمنا بتنزيلها من مكتبة المواد الكيميائية "PubChem" من أجل تقييم تقاربها نحو 2yke من بين 178 جزيئة ، أظهر 136 مركبًا تجاذبًا و ترابطًا أكبر من المثبّط مرجعي الذي تبلغ  $2.49 \text{ M}^{-1}$ .

سمحت لنا نتائج الفحص الافتراضي بواسطة برنامج Surfex باختيار أفضل 3 مركبات يمكن اقتراحها كأفضل مثبّطات للهدف العلاجي 2yke وقد قمنا بتحليل مفصل للتفاعلات المختلفة .

أخيرا ، يُعلمنا تطبيق قاعدة Lipinski بطريقة إيجابية عن الخصائص الفيزيوكيميائية لهذه الجزيئات الجديدة بالإضافة إلى توفرها البيولوجي عن طريق الفم كدواء لن يطرح أي مشكلة .

من الضروري التحقق والتأكد من صحة نتائجنا النظرية من خلال دراسة تجريبية في المختبر و/ أو على الأجسام الحية.

الكلمات الدالة : الإرساء الجزيئي ، الفرز الظاهري ، Surfex ، RMSD ، 2yke ، تشبيط ،

السرطان، Lipinski

## **Table des matières**

Résumé.....	I
Liste des figures.....	IV
Liste des tableaux .....	VI
Liste des abréviations .....	VII

<b>Introduction générale.....</b>	<b>1</b>
-----------------------------------	----------

### **PARTIE THEORIQUE**

#### **CHAPITRE 1 : La protéine chaperonne Hsp90**

1-Définitions .....	3
2-Dynamique de conformation de Hsp90.....	3
3-Rôle de Hsp90 dans la maturation de l'héméprotéine du client.....	5
4-Les isoformes de Hsp 90.....	9
5-Caractéristiques communes.....	10
6-Classification.....	11
7-Structure générale des isoformes Hsp90.....	11
8- Structure de la protéine HSP90 .....	13
9- Mécanisme.....	22
9-1- Liaison ATP .....	22
9-2- Liaison protéique .....	23
10-Interactions avec les co-chaperons.....	24

11-Fonction générale .....	25
11-1- Cellules normales.....	25
11-2-Repliement des protéines et rôle de chaperon.....	26
11-3-Dégradation des protéines.....	26
11-4-Interaction avec les récepteurs stéroïdiens.....	26
11-5-Cellules cancéreuses.....	29
12- Cytosolique Hsp90 .....	30
13- Fonctions spécifiques à Hsp90 $\beta$ .....	32
14- Cibler Hsp90 $\beta$ dans différentes maladies .....	35
15- Fonctions spécifiques au Hsp90 $\alpha$ .....	38
16- La pertinence clinique du ciblage de Hsp90 $\alpha$ .....	43
17- Différences entre Hsp90 dans les cellules normales et les cellules tumorales .....	48
18- Inhibiteurs Hsp90.....	48
19- Facettes thérapeutiques de l'inhibition de Hsp90 .....	51
20- Conclusion.....	52

## **CHAPITRE 2 : Docking moléculaire**

1- Introduction.....	53
2- Définition.....	53
3- Les outils du Docking moléculaires .....	53
2-1- le récepteur .....	53
2-2- le ligand .....	54
4- Principe de Docking moléculaire .....	54
5- Du Docking rigide vers l'introduction de la flexibilité.....	55
6- Les Programmes du Docking.....	55
7- Le programme de docking moléculaire Surflex.....	56

## **PARTIE PRATIQUE**

## **CHAPITRE 3 : MATERIELS ET METHODES.**

### **I-Matériels**

1.1. Micro-ordinateur .....	57
1.2. Programmes.....	57
1.3. Sites internet.....	57

### **II. Méthodes**

1.Docking moléculaire (D.M) :.....	58
2. Tests d'évaluation de la fiabilité du docking.....	58
3. Préparation des molécules pour le docking moléculaire :.....	59
3.1. Préparation de l'enzyme (récepteur) :.....	59
3.2. Préparation des ligands :.....	59
3.3. Les étapes du docking :.....	59
4. Recherche de nouveaux inhibiteurs théoriques de la 2YKE.....	60
5. Filtrage ADME.....	60
6. Analyse visuelle :.....	61

## **CHAPITRE 4 : Résultats et Discussion**

1. Test de fiabilité du programme SURFLEX .....	62
1.1 RMSD .....	62
1.2 L'analyse visuelle .....	63
2. Etude et recherche de nouveaux inhibiteurs de la 2YKE .....	64
2.1. Le criblage virtuel des similaires .....	64
2.2.L'analyse visuelle et discussion des interactions .....	65
-3- propriétés adme de swissadme .....	72
Conclusion.....	76

### **Les références bibliographiques.**



**Annexe**

**Résumé**

## Liste des figures :

Figure 1. Représentations illustrant la dynamique conformationnelle de Hsp90 (états ouverts et fermés) provoquée par sa fonction ATPase lors du repliement de la protéine substrat/client.....	4
Figure 2. ( A ) Structures des hèmes a, b et c. Les hèmes a et c sont synthétisés à partir de l'hème b via des modifications de la chaîne latérale indiquées en rouge. La nomenclature des anneaux de pyrrole a, b, c et o est représentée à l'aide du système Hans Fischer. ( A ) Adapté de la référence . ( B ) Classes représentatives de protéines d'hème qui incorporent de tels hèm.....	6
Figure 3. Représentations illustrant les similitudes dans les interactions Hsp90-apo-protéine en ce qui concerne les états appauvris/pleins en hème de sGC ( A ) et iNOS ( B ). HCP indique une protéine porteuse ultime de l'hème qui peut éventuellement être Hsp90.....	8
Figure 4. ( A , B ) Représentations illustrant le rôle de Hsp90 dans les maturations de l'hémoglobine (Hb) et de la myoglobine (Mb).....	9
Figure 5 : Structure de domaine des membres de la famille HSP90 chez l'homme.....	12
Figure 6 : The amino acid sequences of isoforms HSP90 $\alpha$ (HSP90AA1) and HSP90 $\beta$ (HSP90AB1 ).....	17
Figure 7 : Structure de domaine de la Hsp90 thermo-inductible de levure.....	19
Figure 8 : Structure cristallographique de la poche de liaison à l'ATP de Hsp90 où l'ATP est représenté par une boule et un bâton (atomes de carbone = gris, azote = bleu, oxygène = rouge, phosphore = orange) et Hsp90 est représentée comme une surface solide (négativement chargé = rouge, chargé positivement = bleu, électrostatiquement neutre = gris).....	20
Figure 9 :Mouvement de pince de Hsp90 couplé au cycle ATPase.....	22
Figure10 : Le cycle chaperon Hsp90.....	25
Figure 11 : de principe de la translocation du récepteur des glucocorticoïdes (GR) du cytoplasme vers le noyau assistée par Hsp90.....	27
Figure12:Cycle dépendant de HSP90 de l'activation des SHR .....	28

Figure 13 : Représentation schématique du cycle chaperon moléculaire de Hsp90 $\alpha$ et Hsp90 $\beta$ , soit sous forme d'homodimères isoformes, soit hypothétiquement sous forme d'hétérodimères isoformes.....	31
Figure 14 :Les structures chimiques de quatre principaux inhibiteurs naturels de HSP90.....	49
Figure 15: représentation graphique des pourcentages de RMSD obtenus par Surfex sur 100 complexes protéine-ligand.....	62
Figure 16 : Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en vert) et du finale-0 calculé par Surfex (coloré en bleu) du complexe 2YKE (RMSD = 1.582 Å).....	63
Figure 17 : Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en vert) et du finale-0 calculé par Surfex (coloré en bleu) du complexe 1hw9 (RMSD = 1.756Å).....	63
Figure 18 : Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en vert) et du finale-0 calculé par Surfex (coloré en bleu) du complexe 1Z3N (RMSD = 3.849Å).....	64
Figure 19 : représentation en 3D du mode d'interaction de l'inhibiteur YKE avec le site actif de la Hsp90.....	66
Figure 20 : représentation 2D du mode d'interaction de l'inhibiteur YKE avec le site actif de la Hsp90.....	67
Figure 21 : mode d'interaction du similaire S56 avec le site actif de la Hsp90 en 3D.....	68
Figure 22 : représentation en 2D des interactions de S56 avec le site actif de Hsp90 .....	68
Figure 23 : mode d'interaction du similaire S28 avec le site actif de la Hsp90.....	69
Figure 24 : représentation en 2D des interactions de S28 avec le site actif de Hsp90.....	70
Figure 25 : mode d'interaction du similaire S20 avec le site actif de la Hsp90.....	71
Figure 26 : représentation en 2D des interactions de S20 avec le site actif de Hsp90.....	72

## Liste des tableaux :

Tableau 1 ; Les cinq gènes humains fonctionnels codant pour les isoformes de la protéine Hsp90.....	10
Tableau 2 : Différents membres de la famille HSPC humaine (HSP90) .....	11
Tableau 3 : Liste des divers inhibiteurs de Hsp90 utilisés dans différentes maladies qui ont un impact sur des voies mécanistes distinctes.....	52
Tableau 4 : les Principaux programmes de Docking moléculaire.....	56
Tableau 5 : Les 3 meilleurs similaires, leurs affinités et leurs structures .....	65
Tableau 6 : propriétés physico-chimiques du ligand YKE et des 3 similaires S56, S28 et S20 .....	72
Tableau 7 : Propriétés pharmacocinétiques de YKE et de S56, S28 et S20.....	73

## Liste des abréviations :

AHA1	Activator Of Heat Shock 90kDa Protein ATPase Homolog 1
AHSP	protéine stabilisatrice alpha Hb
Akt1	plus connu sous le terme « Akt » ou « protéine kinase B»
BACH1	BTB Domain And CNC Homolog 1
BCR-ABL	est l'anomalie chromosomique la plus fréquente dans les LAL de l'adulte
Cellules hek293t	Les cellules 293 de rein embryonnaire humain, également appelées cellules HEK293, cellules 293, voire même cellules HEK, sont une lignée cellulaire dérivée de rein embryonnaire humain.
Celulles SH-SY5Y	est une lignée cellulaire d'origine humaine utilisée dans la recherche scientifique. La lignée cellulaire d'origine, appelée SK-N-SH, à partir de laquelle elle a été sous-clonée, a été isolée à partir d'une biopsie de moelle osseuse prélevée sur une fillette de quatre ans atteinte d'un neuroblastome.
CK2	la caséine kinase 2
CTD	Domain C-terminal
DSB	les sites de cassures double brin de l'ADN
EGCG	l'épigallocatechine-3-gallate
EGFR	récepteurs du facteur de croissance.
eNOS	endoplasmique nitrique oxyde synthase
EPO	L'érythropoïétine (EPO) est une hormone principalement sécrétée par le cortex rénal, dont la synthèse est oxygénodépendante.
FixL	is an oxygen-binding hemoprotein and a kinase that autophosphorylates and also phosphorylates
FKBP	ou protéines de liaison FK506
FKBP51	The FK506-binding protein 51
FLVCR1b	Feline leukemia virus subgroup C receptor-related protein 1
FPI	La fibrose pulmonaire idiopathique
GAPDH	La glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase
GR	Le récepteur des glucocorticoïdes
GRP94	protéine régulée par le glucose de 94 kDa
GyrB	Bacterial gyrase B subunit
HDM	Les acariens de la poussière domestique
HER2	ou Human Epidermal Growth Factor Receptor-2 est une protéine codée par le proto-oncogène HER2/neu localisé sur le bras long du chromosome 17.
hERG	(de l'anglais : human Ether-à-go-go-Related Gene) est un canal potassique important, c'est-à-dire une protéine jouant le rôle de canal ionique.
HIF1A	Le facteur 1-alpha inductible par l'hypoxie
HNF4A	Le facteur nucléaire 4 alpha des hépatocytes
HSP	Les protéines de choc thermique.
HtpG	The bacterial chaperone high-temperature protein G
iNOS	inducible nitric oxide synthase
KDEL	proteins perform essential functions in the endoplasmic reticulum (ER) related to protein folding as well as assembly
LRP1	la protéine 1 liée au récepteur LDL
MA	maladie Alzheimer
MAFLD	stéatose hépatique associée au métabolisme.

MAP1B	la protéine 1B associée aux microtubules
MD	Le domaine intermédiaire
MDR1	Le gène code pour la synthèse d'une protéine, la glycoprotéine P ou P-gp, qui se trouve dans les cellules de la barrière hémato-méningée
MEEVD	H-Met-Glu-Glu-Val-Asp-OH
MG-63	une cellule qui a une morphologie de fibroblaste isolée de l'os d'un patient de sexe masculin blanc de 14 ans atteint d'ostéosarcome.
MMP2	la métalloprotéinase matricielle
MOR	le récepteur opioïde $\mu$
NAFLD	stéatose hépatique non alcoolique
NB	novobiocine
NBN	La nibrine également connue sous le nom de NBN ou NBS1, est une protéine qui, chez l'homme, est codée par le gène NBN
NOS	Nitric Oxide Synthase
NTD	domain N-terminal
PER2	Period Circadian Regulator 2
P-gp	La glycoprotéine P
PI3K	sont une famille d'enzymes qui provoquent la phosphorylation de PtdIns (phosphatidylinositol) pour générer du phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate (PIP3).
Piwi	est une abréviation de P-element Induced Wimpy testis in Drosophila, Les gènes Piwi ont été identifiés comme des protéines régulatrices responsables de la différenciation des cellules souches et des cellules germinales.
PLC $\gamma$	Phosphoinositide phospholipase C.
PP5	la protéine phosphatase 5
PXR	Le pregnane X receptor, également connu sous le nom de steroid and xenobiotic sensing nuclear receptor, est une protéine de la superfamille des récepteurs nucléaires, famille des récepteurs orphelins.
RAF1	est sérine/thréonine kinase.
Rapsyn	La protéine associée au récepteur de 43 kDa de la synapse
RevErb $\alpha\beta$	Re members of the nuclear receptor (NR) superfamily of intracellular transcription factors and key regulatory components of the circadian clock.
ROS	espèces réactives de l'oxygène
sGC	Soluble guanylyl cyclase
STING	le stimulateur protéique des gènes de l'interféron
TBK1	:est une I $\kappa$ B kinase (en) (IKK) non canonique qui phosphoryle le facteur nucléaire $\kappa$ B ( NF- $\kappa$ B ).
TPR	répétition contenant des tétratricopeptides
TRAIL	TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL), is a protein functioning as a ligand that induces the process of cell death.
TRAP-1	protéine 1 associée au récepteur du facteur de nécrose tumorale
VDR	récepteur de la vitamine D
VEGF	facteur de croissance de l'endothélium vasculaire
VEGFR	: Les récepteurs du VEGF sont des récepteurs du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire.

# **Introduction générale**

# Introduction générale

## Introduction générale

La réponse au choc thermique a été découverte dans les années 1960 par le scientifique italien Ferruccio Ritossa qui a observé un gonflement caractéristique dans les chromosomes des mouches des fruits laissées involontairement dans un environnement à haute température [ 1 ]. Ritossa a attribué le gonflement des chromosomes à l'expression accrue de protéines spécifiques résultant de l'activation des gènes respectifs en réponse au stress thermique [ 2 ]. Les protéines de choc thermique (HSP) ont ensuite été découvertes et sont devenues un domaine d'étude important car elles sont omniprésentes, présentes dans tous les organismes et fonctionnent comme des chaperons qui aident à réparer et à replier correctement les protéines clientes [ 3 ]. Ils facilitent également le transport intracellulaire des protéines dans le cytosol, le réticulum endoplasmique et les mitochondries [ 4]. Ce faisant, ils protègent les cellules des effets néfastes de la chaleur et d'autres facteurs [ 3 , 5 ].

Dans le passé, le processus de développement d'un nouveau médicament était long et coûteux. De nos jours, avec le développement de l'outil informatique, de la bio-informatique et particulièrement du docking moléculaire, la recherche devient plus rapide et moins onéreuse.

Le docking moléculaire présente un outil exemplaire pour prédire la position la plus favorable d'un ligand au sein de son récepteur.

Nous l'avons utilisé afin de proposer de nouveaux inhibiteurs de notre cible, la hsp90-alpha. Pour ce faire, nous allons réaliser un criblage d'une banque de molécules virtuelles afin de rechercher des similaires plus efficaces que l'inhibiteur de référence qui se trouve à l'état expérimental sous forme de complexe avec l'enzyme Hsp90.

Dans ce travail, nous allons dans un premier temps, vérifier la fiabilité du programme de docking moléculaire par le test RMSD (root mean square deviation) suivi d'une analyse visuelle.

Dans un deuxième temps, nous allons rechercher les similaires du ligand de référence YKE présentant une meilleure affinité envers l'enzyme Hsp90.

Enfin dans un troisième temps, nous allons évaluer les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques des 3 meilleurs similaires afin de déterminer ceux susceptibles de devenir des candidats-médicament

Notre mémoire comprend trois grandes parties :

1- Une partie bibliographique qui comprend deux chapitres dont le premier porte sur l'enzyme Hsp90-alpha et le deuxième décrit le docking moléculaire et ses logiciels.



## **Introduction générale**

- 2- Une partie pratique formée de deux chapitres dont le premier présente le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude et le second expose les résultats et leurs interprétations
- 3- Une conclusion qui résume le travail avec des perspectives clôture le document

# **PARTIE THEORIQUE**

## **CHAPITRE 1 : La protéine chaperonne Hsp90**

## **1-Définitions :**

Hsp90 (heat shock protein 90) est une protéine chaperon qui aide les autres protéines à se replier correctement, stabilise les protéines contre le stress thermique et aide à la dégradation des protéines.

Il stabilise également un certain nombre de protéines nécessaires à la croissance tumorale, c'est pourquoi les inhibiteurs de Hsp90 sont étudiés comme médicaments anticancéreux.

Les protéines de choc thermique, en tant que classe, font partie des protéines cellulaires les plus exprimées dans toutes les espèces.[6] Comme leur nom l'indique, les protéines de choc thermique protègent les cellules lorsqu'elles sont stressées par des températures élevées. Ils représentent 1 à 2% des protéines totales dans les cellules non stressées.

Cependant, lorsque les cellules sont chauffées, la fraction des protéines de choc thermique augmente à 4 à 6 % des protéines cellulaires.[7]

La protéine de choc thermique 90 (Hsp90) est l'une des protéines liées à la chaleur les plus courantes. Le "90" vient du fait qu'il a une masse d'environ 90 kilodaltons. Une protéine de 90 kDa est considérée comme assez grande pour une protéine non fibreuse.

Hsp90 se trouve dans les bactéries et toutes les branches d'eucarya, mais elle est apparemment absente des archées.[8]

Alors que la Hsp90 cytoplasmique est essentielle pour la viabilité dans toutes les conditions chez les eucaryotes, l'homologue bactérien HtpG est indispensable dans des conditions de stress non thermique. [9]

Cette protéine a d'abord été isolée en extrayant des protéines de cellules stressées par le chauffage, la déshydratation ou par d'autres moyens, ce qui a provoqué la dénaturation des protéines de la cellule. Cependant, il a été découvert plus tard que Hsp90 a également des fonctions essentielles dans les cellules non stressées

## **2- Dynamique de conformation de Hsp90 ;**

Des études structurales approfondies ont révélé que le cycle chaperon Hsp90 pouvait être divisé en conformations distinctes, qui semblent être en équilibre dynamique [ 10]. Dans l'état apo ( Figure 1 ), Hsp90 adopte principalement une forme ouverte en forme de V, appelée « conformation ouverte » [ 11 ].

Ensuite, la liaison et l'hydrolyse de l'ATP entraînent les changements conformationnels et conduisent à la formation du premier état intermédiaire, dans lequel le couvercle de l'ATP est fermé, mais le NTD est toujours ouvert [ 12 ] .

Les substrats dépliés sont reconnus par des co-chaperons et chargés sur Hsp90 au cours de ce processus [ 13].

Par la suite, l'activité Hsp90 ATPase est déclenchée par le co-chaperon Aha1 ainsi que la dissociation d'autres co-chaperons, tels que Hsp70 et Hop, ce qui favorise la fermeture de l'homodimère Hsp90, ce qui amène Hsp90 dans sa « conformation fermée » [ 14 ] .

Cette dimérisation conduit à la formation du deuxième état intermédiaire, dans lequel le MD se repositionne et interagit avec le NTD.

L'hydrolyse de l'ATP est catalysée dans cet état complètement fermé, ce qui entraîne le repliement du substrat. Ensuite, l'ouverture ultérieure du NTD du dimère Hsp90 restaure la « conformation ouverte » initiale [ 12 , 15 ] .

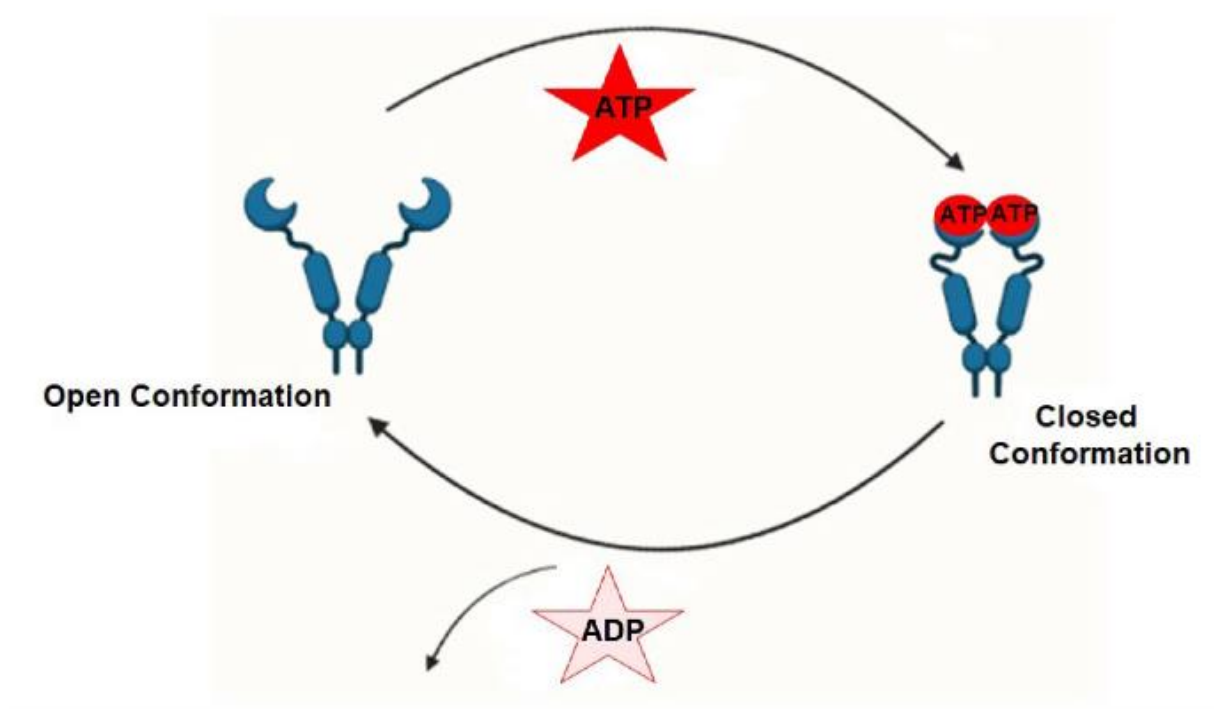


Figure 1. Représentations illustrant la dynamique conformationnelle de Hsp90 (états ouverts et fermés) provoquée par sa fonction ATPase lors du repliement de la protéine substrat/client. , [161 ].

### **3- Rôle de Hsp90 dans la maturation de l'héméprotéine du client :**

Les héméprotéines sont des métalloprotéines distribuées de manière ubiquitaire trouvées dans la nature qui contiennent de l'hème ou une protoporphyrine de fer (Fe) IX (ou un dérivé de ce macrocycle) dans le site actif [ 16 ] .

En fonction des chaînes latérales présentes dans le macrocycle et du type de liaison impliquée dans l'interaction avec la protéine, les hèmes sont classés en trois grandes classes ; a, b et c [ 17]. Les hèmes a et c sont synthétisés à partir de l'hème b, qui est l'hème le plus abondant trouvé dans les héméprotéines, et des modifications chimiques distinctives se produisent dans les chaînes latérales ( Figure 2 A).

L'hème est coordonné à la protéine par ligature axiale via des résidus histidine, méthionine, tyrosine ou cystéine [ 17 ].

Les classes distinctives des protéines de l'hème ( Figure 2B) jouent un rôle central dans différentes fonctions biologiques, notamment l'énergétique cellulaire (cytochromes), le transport/stockage de l'oxygène (hémoglobine et myoglobine), la dégradation du peroxyde d'hydrogène (peroxydases, catalases), la réduction de l'oxygène (hème-cuivre oxydases), la détection de l'hème ou des petites molécules ( FixL, capteurs HemeAT), régulation de la transcription (Per2, RevErb  $\alpha\beta$ , Bach1), signalisation cellulaire (sGC, NOSs), nombreuses transformations enzymatiques, etc., [ 18 , 19, 20 ] et utilisent remarquablement le même cofacteur hème pour conférer des fonctions.

Ainsi, dans tous les cas, le cofacteur de l'hème est essentiel à la fonction, mais comme l'hème libre est toxique, sa production est étroitement régulée [ 21 ].

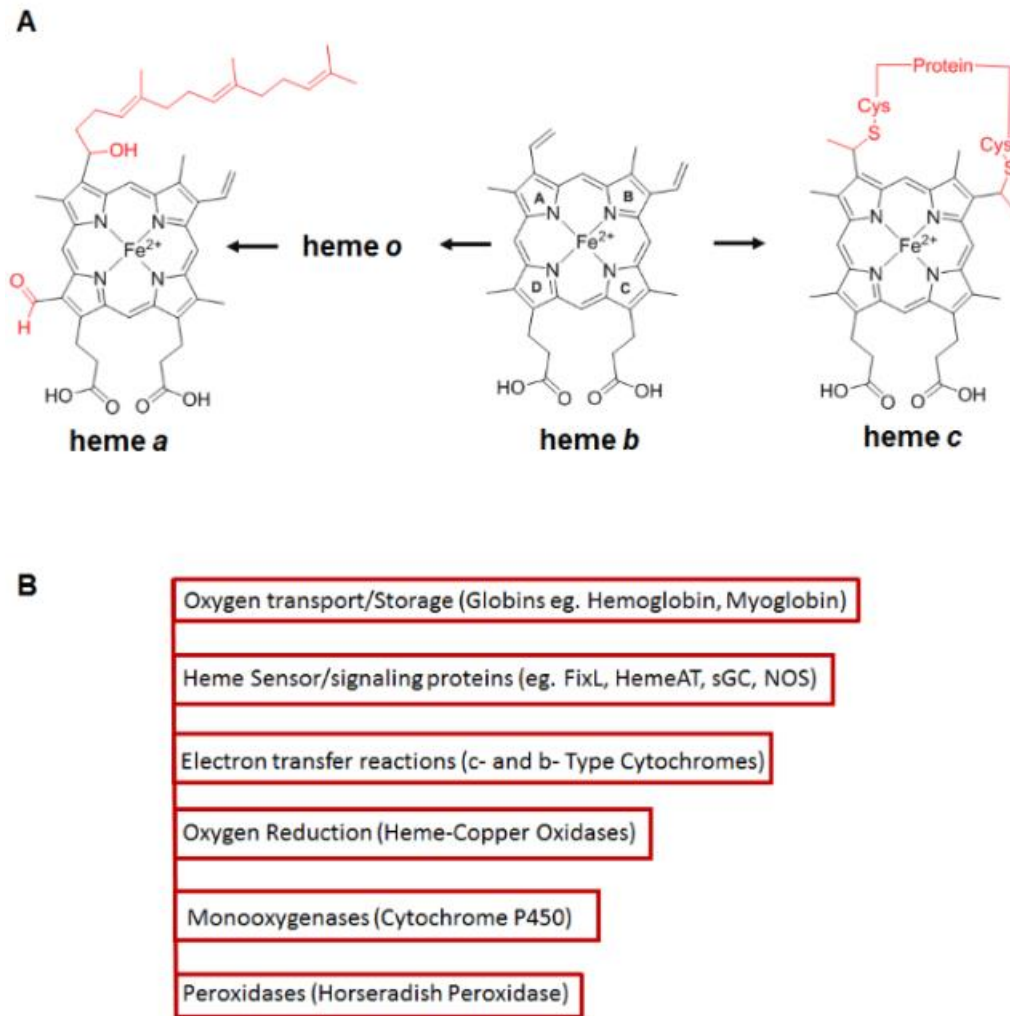


Figure 2. ( A ) Structures des hèmes a, b et c. Les hèmes a et c sont synthétisés à partir de l'hème b via des modifications de la chaîne latérale indiquées en rouge. La nomenclature des anneaux de pyrrole a, b, c et o est représentée à l'aide du système Hans Fischer. ( A ) Adapté de la référence [ 16 ]. ( B ) Classes représentatives de protéines d'hème qui incorporent de tels hém.

Les étapes spécifiques de la biosynthèse de l'hème sont bien documentées et se déroulent à la fois dans les compartiments cytosolique et mitochondrial d'une cellule [ 22 23 , 24 ], les trois dernières étapes se produisant dans les mitochondries. Cependant, à l'exception de la biogenèse du cytochrome c [ 25 ] et de certains aspects de l'acquisition et du catabolisme de l'hème [ 26 , 27 ], on sait relativement peu de choses sur la façon dont l'hème est transporté hors des mitochondries dans les cellules eucaryotes et comment il s'insère dans les protéines solubles dans le cytosol, ou comment ces processus pourraient être régulés [ 28 ]. Ces étapes sont critiques, étant donné que l'hème libre est potentiellement cytotoxique [ 29 ] et est normalement maintenu à de faibles niveaux intracellulaires [ 30 ].

De nouvelles études ont identifié un exportateur d'hème mitochondrial FLVCR1b, qui est essentiel pour l'érythropoïèse [ 31 , 32 ].

Comment cet exportateur d'hème se rapporte au transport de l'hème dans les hémoprotéines solubles dans le cytosol reste à étudier.

Des études de ce groupe [ 33 , 34 ] ainsi que certaines du groupe d'Osawa [ 35 ] ont révélé une implication spécifique du chaperon Hsp90 dans l'insertion de l'hème cytosolique dans des protéines solubles telles que iNOS et la guanylate cyclase soluble (sGC) ( Figure 3).

Dans les deux cas, nous avons constaté que Hsp90 s'associe à l'apo-enzyme sans hème (monomère sans hème ou apo-iNOS ou sous-unité apo-sGC $\beta$ 1) dans les cellules, puis entraîne l'insertion de l'hème dans l'apo-enzyme par un dépendant de l'ATP processus, après quoi l'interaction Hsp90-apo-enzyme s'effondre.

Étant donné que nos modèles pour la fonction Hsp90 dans la maturation sGC et iNOS sont identiques [ 33 , 34 ], cela implique que Hsp90 peut fonctionner via un mécanisme commun pour cibler et stabiliser les formes sans hème des hémoprotéines clientes, puis permettre leur maturation en pilotant l'hème. insertion par un processus dépendant de l'ATP ( Figure 3 ). Notre passé [ 35 ] et notre présent [ 36] les résultats ont également révélé que de faibles doses d'oxyde nitrique (NO) peuvent contribuer à la maturation du sGC en déclenchant une insertion rapide d'hème dépendant de Hsp90 dans la population apo-sGC $\beta$ 1 (sans hème), aboutissant finalement à un hétérodimère sGC- $\alpha$ 1 $\beta$ 1 mature [ 35 ].

Cette découverte d'une formation active élevée d'hétérodimères sGC- $\alpha$ 1 $\beta$ 1 par un déclencheur NO provoquant l'insertion d'hème dans apo-sGC $\beta$ 1, a comblé un vide dans un travail antérieur effectué par Ignarro et ses collègues dans les années 1980 qui a montré que la fraction NO-hème pouvait être transférée dans heme-free ou apo-sGC $\beta$ 1 par une réaction d'échange avec les NO-hémoprotéines pour activer l'enzyme [ 37].

Ceci suggère qu'une synergie NO-Hsp90 peut être essentielle pour la maturation et l'activation de certaines hémoprotéines.

D'autres études sur les protéines hémiques transmembranaires telles que les NADPH oxydases (NOX) ont montré des preuves préliminaires d'une Hsp90 [ 38 ].

Les enzymes NOX utilisent le NADPH pour synthétiser le superoxyde.



Cette fonctionnalité NOX dépend de son hème et est une source majeure d'espèces réactives de l'oxygène cellulaire (ROS) [ 39 , 40 ].

En raison de la toxicité intrinsèque des ROS, la régulation des enzymes NOX a développé un degré significatif de complexité.

Il a été démontré que Hsp90 se lie au domaine C-terminal de NOX5 et régule sa production de superoxyde, suggérant que Hsp90 peut réguler certains paramètres du redox cellulaire [ 38].

Plus récemment, une étude a identifié un contrôle régulateur plus dynamique de l'activité de NOX5 en modulant son hème via les niveaux d'hème intracellulaire et Hsp90 [ 41 ], cependant, de telles études nécessitent des ressemblances physiologiques et des études de suivi sont nécessaires.

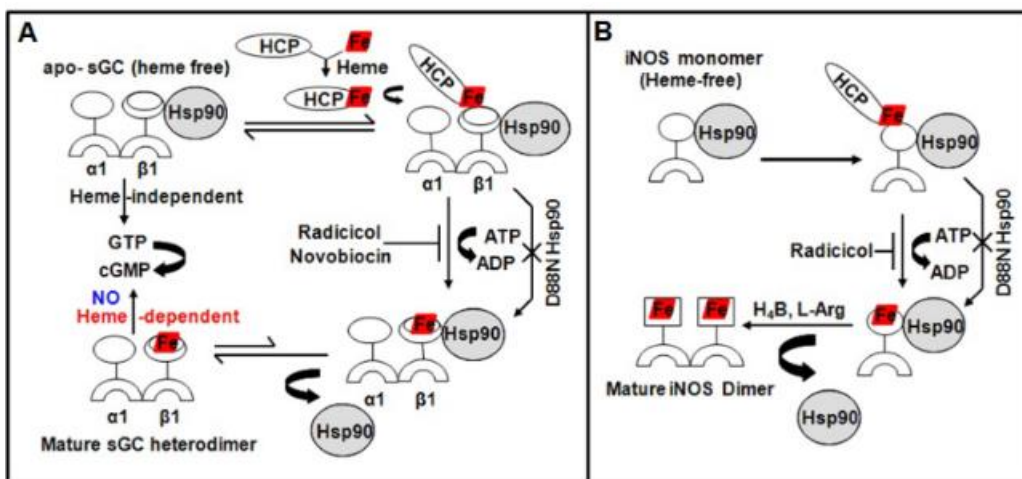


Figure 3. Représentations illustrant les similitudes dans les interactions Hsp90-apo-protéine en ce qui concerne les états appauvris/pleins en hème de sGC ( A ) et iNOS ( B ). HCP indique une protéine porteuse ultime de l'hème qui peut éventuellement être Hsp90. [ 161 ]

De nouvelles recherches de notre groupe ont également identifié Hsp90 et GAPDH comme étant des acteurs majeurs dans le processus par lequel l'hémoglobine (Hb) et la myoglobine (Mb) se forment et mûrissent [ 42 , 43 , 44 ].

Nous avons constaté que Hsp90 chaperonne la maturation de l'hémoglobine (Hb) dans les cellules érythroïdes et non érythroïdes (RAW, cellules A549) suivant un mécanisme similaire [ 21 ] ( Figure 4 ).

Alors que dans les cellules érythroïdes, Hb- $\alpha$  et Hb- $\beta/\gamma$  ( $-\beta$  adulte / $\gamma$  fœtalHb) sont chaperonnés indépendamment par AHSP (protéine stabilisatrice alpha Hb) et Hsp90, respectivement, et

Hsp90 favorise la maturation de l'hème des deux sous-unités Hb- $\alpha\beta$  dans les cellules non érythroïdes dépourvues d'AHSP.

Nous avons également constaté que la myoglobine musculaire (Mb)/Hb nécessite non seulement Hsp90 et sa machinerie co-chaperon, mais a également besoin d'un sGC actif pour sa maturation de l'hème [43] ( Figure 4 ).

Nous avons récemment établi que dans tous ces événements de maturation de la globine, GAPDH agit comme un chaperon de l'hème, allouant/fournissant l'hème généré par les mitochondries aux complexes apo-Hsp90/AHSP-Hb  $\alpha/\beta/\gamma/\text{Mb}$  [ 44], où ces maturations de l'hème de la globine sont influencées par l'apport en fer, l'ampleur de l'expression de GAPDH, de l'acide d-aminolévulinique plus FLVCR1b et que Hsp90 peut être le donneur d'hème ultime de ces globines [ 44 ] .

Ensemble, ces découvertes impliquent que Hsp90 et GAPDH jouent un rôle clé dans la maturation de la globine et nos études actuelles lient l'activation de sGC à la maturation des globines (Mb/Hb), contribuant ainsi à la formation de nouveaux axes NO-sGC-Globine.

Nos études pourraient trouver une utilisation potentielle dans le développement de traitements contre le cancer, car certaines cellules cancéreuses utilisent l'Hb différemment des globules rouges [ 45 , 46 ] et d'autres maladies du sang telles que la drépanocytose, la thalassémie, etc., [ 47 , 48 , 49]

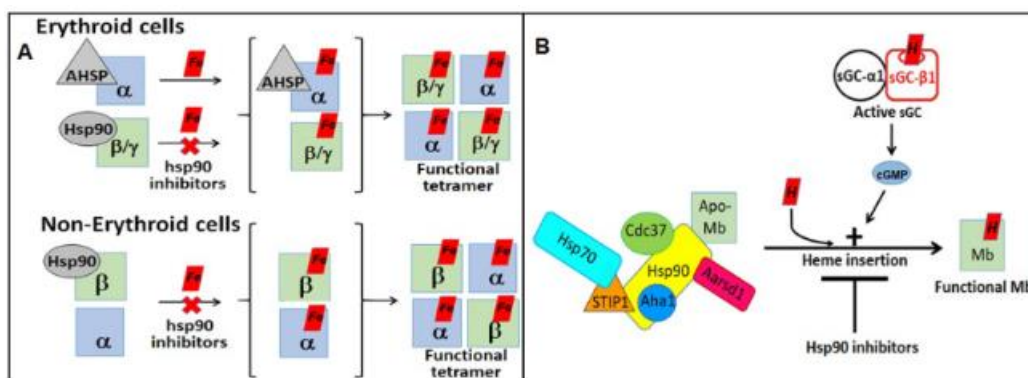


Figure 4. ( A , B ) Représentations illustrant le rôle de Hsp90 dans les maturations de l'hémoglobine (Hb) et de la myoglobine (Mb). [161]

#### 4- Les isoformes de hsp 90:

Les protéines de choc thermique sont classées en fonction de la masse moléculaire de leur monomère, allant de 10 à plus de 100 kDa, de leur structure et de leur fonction [ 50 , 51 ] .

Les principales familles de protéines de choc thermique sont HSP100, 90, 70, 60 et les petites HSP (sHSP) [ 51 ].

L'objectif de cet examen est HSP90. HSP90 fait référence à un sous-ensemble de protéines de choc thermique qui ont une masse moléculaire de 90 kDa. Au sein de la famille HSP90, les différents membres sont présents dans différents compartiments cellulaires.

HSP90 $\alpha$  et HSP90 $\beta$  sont dans le cytoplasme, GRP94 (protéine régulée par le glucose de 94 kDa) est présente dans le réticulum endoplasmique et TRAP-1 (protéine 1 associée au récepteur du facteur de nécrose tumorale) existe dans les mitochondries [ 50 ] .

Tableau 1 ; Les cinq gènes humains fonctionnels codant pour les isoformes de la protéine Hsp90 sont énumérés ci-dessous :[52]

family	subcellular location	subfamily	gene	protein
HSP90A	cytosolic	HSP90AA (inducible)	HSP90AA1	Hsp90- $\alpha_1$
			HSP90AA2	Hsp90- $\alpha_2$
		HSP90AB (constitutively expressed)	HSP90AB1	Hsp90- $\beta$
HSP90B	endoplasmic reticulum		HSP90B1	Endoplasmic/ GRP-94
TRAP	mitochondrial		TRAP1	TNF Receptor-Associated Protein 1

### 5- Caractéristiques communes :

La structure globale de Hsp90 est similaire à celle d'autres protéines en ce qu'elle contient tous les éléments structurels secondaires communs (c'est-à-dire les hélices alpha, les feuilles plissées bêta et les bobines aléatoires).

Être une protéine cytoplasmique nécessite que la protéine soit de structure globulaire, c'est-à-dire en grande partie non polaire à l'intérieur et polaire à l'extérieur, de manière à être dissoute par l'eau. Hsp90 contient neuf hélices et huit feuillettes plissées bêta anti-parallèles, qui se combinent pour former plusieurs sandwichs alpha/bêta.

Les 310 hélices représentent environ 11 % des résidus d'acides aminés de la protéine, ce qui est beaucoup plus élevé que la moyenne de 4 % des autres protéines.[53]

## 6- Classification :

Selon les nouvelles directives pour la nomenclature HSP, la famille HSP90 humaine comprend cinq membres qui sont classés sous le nom de superfamille HSPC [ 54 ].

Les noms récents ainsi que les anciens noms alternatifs des membres HSP90 sont répertoriés dans Tableau 2

Nom du gène	Nom de la protéine	Autre nom	ID de gène humain
<i>HSPC1</i>	HSPC1	HSP90AA1 ; HSPN ; LAP2 ; HSP86; HSPC1 ; HSPCA ; HSP89; HSP90; HSP90A ; HSP90N; HSPCAL1 ; HSPCAL4; FLJ31884	3320
<i>HSPC2</i>	HSPC2	HSP90AA2 ; HSPCA ; HSPCAL3 ; HSP90ALPHA	3324
<i>HSPC3</i>	HSPC3	HSP90AB1 ; HSPC2 ; HSPCB ; D6S182 ; HSP90B ; FLJ26984; HSP90-BÊTA	3326
<i>HSPC4</i>	HSPC4	HSP90B1 ; ECGP ; GP96; TRA1; GRP94; endoplasmine	7184
<i>HSPC5</i>	HSPC5	TRAP1 ; HSP75; HSP90L	10131

Tableau 2 : Différents membres de la famille HSPC humaine (HSP90) [ 5 ].

Les protéines HSP90 peuvent être classées en fonction de leur localisation cellulaire, où les membres cytoplasmiques comprennent HSPC1 (HSP 90-alpha), HSPC2 (HSP 90-alpha A2) et HSPC3 (HSP 90-beta), membre résident ER ; HSPC4 ou GRP94 (GP96) et membre localisé mitochondrial ; et HSPC5 (TRAP1).

Une classification plus poussée des HSP90 est basée sur leur modèle d'expression. Par exemple, Hsp90 $\beta$  est exprimée de manière constitutive, tandis que Hsp90 $\alpha$  est induite dans des conditions de stress [ 55 , 56 ].

## 7- Structure générale des isoformes HSP90 :

Les caractéristiques structurales, biochimiques et moléculaires de HSP90 ont été minutieusement examinées [ 57 , 58 , 59 ].

Nous présentons un bref aperçu pour fournir le contexte de base pour comprendre la fonction HSP90 dans des conditions physiologiques et pathologiques.

La structure moléculaire globale des homologues de HSP90 comprend trois principaux domaines conservés ; Domaine N-terminal (NTD), domaine C-terminal (CTD) et domaine intermédiaire (MD) [ 60 , 61, 62 , 63].

Chez les eucaryotes, il existe un domaine variable chargeur linker qui relie le NTD au MD [ 64].

Chaque domaine au sein de la structure HSP90 remplit une fonction spécifique. Le NTD se lie à l'ATP, d'où son nom de site de liaison aux nucléotides.

Le CTD est responsable de la dimérisation des protéines et contient des motifs spéciaux MEEVD ou KDEL selon l'isoforme HSP90 et sa localisation cellulaire soit dans le cytoplasme, soit dans le RE. Bien qu'il ait une séquence divergente parmi de nombreux organismes eucaryotes, le domaine de liaison chargé s'est avéré essentiel dans la fonction, l'interaction et la flexibilité du chaperon [ 64 ].

Une représentation schématique de la topologie HSP90 est présentée dans Figure 5.

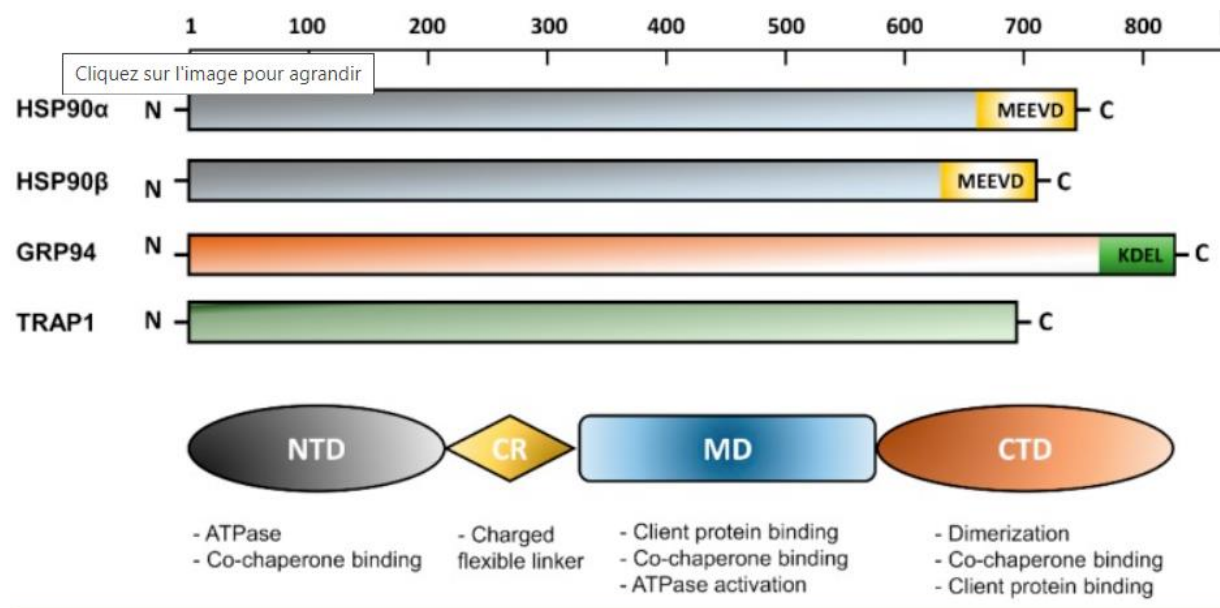


Figure 5 : Structure de domaine des membres de la famille HSP90 chez l'homme.

La numérotation de 1 à 900 indique la séquence d'acides aminés. Les longueurs de HSP90α, HSP90β, GRP94 et TRAP1 sont respectivement de 732, 724, 704 et 803 acides aminés.

Ci-dessous est présentée une représentation schématique de la structure de domaine des isoformes de HSP90 ainsi que la fonction biologique de chaque domaine. :[162]

## 8- Structure de la protéine HSP90 :

Structure du domaine :

Hsp90 se compose de quatre domaines structurels : [65][66][67]

un domaine N-terminal (NTD) hautement conservé d'environ 25 kDa

une région "lieur chargé", qui relie l'extrémité N-terminale au domaine intermédiaire

un domaine intermédiaire (MD) de ~ 40 kDa

un domaine C-terminal (CTD) d'environ 12 kDa.

HSP90 est un dimère composé de monomères avec une structure globale constituée de trois principaux domaines conservés appelés domaine N-terminal (NTD), domaine C-terminal (CTD) et domaine intermédiaire (MD) [68,69,70,71,72].

Ces domaines sont reliés par des lieurs qui permettent aux domaines de se réorganiser lorsque HSP90 subit des changements conformationnels [18].

Chez les eucaryotes, il existe un domaine de liaison chargé qui relie les domaines N-terminal et intermédiaire. Ce domaine de liaison chargé varie en longueur et en composition de séquence d'acides aminés .

Le domaine N-terminal (NTD)

Structurellement, le domaine N-terminal de la HSP90 humaine semble être très similaire à celui des HSP de levure [ 73 ].

Il contient un motif de liaison à l'ATP qui partage une conservation élevée avec la superfamille GHKL (Gyrase, HSP90, histidine kinase et MutL) et diffère des motifs correspondants de HSP70 ou des protéines kinases [ 74 ] .

Le site de liaison à l'ATP est nécessaire à l'activité HSP90 ATPase nécessaire au cycle chaperon et à la liaison des protéines clientes HSP90 [ 74 , 75 ] .

D'une importance particulière, la NTD a été utilisée comme cible majeure pour les inhibiteurs de Hsp90 tels que la geldanamycine (GA) et le radicicol (RD).

Ce sont des inhibiteurs de produits naturels, qui agissent en compétition avec l'ATP pour se lier à la poche de liaison à l'ATP dans le NTD de HSP90.

### La région de liaison chargée (CR)

Contrairement aux procaryotes, HSP90 eucaryote a une courte région dynamique, qui relie le NTD au domaine intermédiaire (MD).

Ce domaine est hautement chargé et a une longueur et une composition en acides aminés variables [ 76 ].

Étant donné que le HSP90 eucaryote traite une multitude de protéines, cette région de liaison chargée a été suggérée pour augmenter la flexibilité et la dynamique pour faire face à l'environnement encombré des cellules eucaryotes [76 , 77 ] .

Il existe des rapports contradictoires sur le rôle de la région chargée dans la modulation de l'activité chaperon HSP90.

Alors que certaines études suggèrent la région chargée comme modulateur de l'activité chaperonne [ 78 ], d'autres négligent son influence potentielle sur les fonctions HSP90 [ 79 ].

### Le Domaine du Milieu (MD)

Une caractéristique importante du MD est qu'il module la fonction HSP90 en liant le  $\gamma$ -phosphate d'ATP spécifié pour le NTD modulant ainsi son activité ATPase [ 80 ].

De plus, plusieurs études ont démontré que ce domaine est impliqué dans la liaison de co-chaperons comme Aha1 et dans l'interaction avec les protéines clientes [ 81 ].

### Le domaine C-terminal (CTD)

Le CTD contient deux sites clés; l'un pour la liaison de la calmoduline [ 82 ] et l'autre pour l'homodimérisation de HSP90 [ 83 ].

De plus, il contient un site de liaison aux nucléotides qui s'ouvre suite à l'occupation du site N-terminal et sert de régulateur allostérique de l'activité ATPase N-terminale [ 84].

Fait intéressant, les sites de liaison des nucléotides N- et C-terminaux présentaient des spécificités différentielles vis-à-vis de leurs ligands.

Le site de liaison N-terminal s'est avéré spécifique aux nucléotides d'adénosine contenant un cycle d'adénine intact, comme les dinucléotides d'adénine de nicotinamide et les alarmones d'adénosine polyphosphate.

D'autre part, le site de liaison C-terminal était beaucoup moins spécifique en interagissant avec les nucléotides puriques et pyrimidiques.

Les nucléotides GTP et UTP ont montré une spécificité vis-à-vis du site de liaison C-terminal. De plus, les 2',3'- O- (2,4,6-trinitrophényl)-nucléotides (TNP-ATP, TNP-GTP) et le pyrophosphate ont pu se lier au site de liaison C-terminal sans avoir besoin de N-terminal occupé. site [ 84 ].

Ainsi, certains médicaments comme la novobiocine (NB) [ 85 ] et l'épigallocatechine-3-gallate (EGCG) [ 86 ] pourraient affecter la fonction de HSP90 en ciblant le CTD.

Il a été montré que la CTD est incluse dans l'activité chaperonne de HSP90 vis-à-vis des facteurs de transcription et de la protéine G du virus de la stomatite vésiculeuse [ 87 ].

Le ciblage du CTD par l'anticorps monoclonal anti-Hsp90 AC-88 pourrait entraver l'interaction de HSP90 avec de nombreux clients protéiques, notamment les récepteurs stéroïdiens et les filaments d'actine [ 88 ].

Une autre caractéristique de la HSP90 CTD est l'existence de la séquence peptidique MEEVD qui lie le domaine TPR (répétition contenant des tétratricopeptides) contenant des co-chaperons comme HOP et des immunophilines [ 89 ]

Chacun de ces domaines assume une fonction spécifique et ils sont nécessaires pour éviter l'accumulation de protéines endommagées ou mal repliées, en particulier lors du vieillissement [90].

Le NTD est le site de liaison de l'ATP et est donc appelé le site de liaison des nucléotides [90]. Par conséquent, le NTD est nécessaire pour l'activité HSP90 ATPase, nécessaire pour le cycle chaperon et la liaison des protéines clientes au chaperon HSP90 [90]. Le CTD joue un rôle important dans la dimérisation des protéines.

Il possède deux sites principaux : un pour la liaison de la calmoduline et un autre pour l'homodimérisation de HSP90 [90].

Le CTD possède également un site de liaison aux nucléotides qui s'ouvre lorsque le NTD est occupé, agissant ainsi comme un régulateur allostérique de l'activité ATPase N-terminale [90]. Le CTD contient des motifs spéciaux, MEEVD ou KDEL, qui diffèrent en fonction de l'isoforme HSP90 et de sa localisation dans la cellule, soit dans le cytoplasme, soit dans le RE [90]. Le MD fonctionne dans la liaison des substrats.



Le MD régule également l'activité HSP90 ATPase, comme on le voit lorsque le substrat se lie au MD, provoquant une augmentation de l'activité ATPase [90].

Bien que connu pour être présent uniquement dans HSP90 eucaryote, le domaine de liaison chargé est essentiel pour la fonction, l'interaction et la flexibilité du chaperon HSP90 [90].

La dimérisation est nécessaire au bon fonctionnement de HSP90. Plus précisément, la HSP90 de mammifère est un dimère phosphorylé avec des monomères, chacun contenant 2 à 3 molécules de phosphate liées par covalence.

De plus, bien qu'ayant un site de liaison à l'ATP dans le NTD, HSP90 a non seulement une activité ATPase mais aussi une activité GTPase [90].

Chez les mammifères, il existe deux isoformes principales de HSP90, qui peuvent résulter de gènes dupliqués [90].

Ces deux isoformes sont la forme inductible HSP90 $\alpha$  et la forme constitutive HSP90 $\beta$ . Ils partagent 85 % d'homologie et se retrouvent tous les deux dans le cytoplasme [30].

Bien qu'il s'agisse d'isoformes, HSP90 $\alpha$  et HSP90 $\beta$  présentent certaines variations dans des sections spécifiques de leurs séquences protéiques, comme le montre la figure 1.

HSP90 $\alpha$  se compose de 732 acides aminés, tandis que HSP90 $\beta$  se compose de 724 acides aminés.

De plus, HSP90 $\alpha$  a tendance à se dimériser plus fréquemment que HSP90 $\beta$ . Bien qu'il existe certaines différences entre les deux isoformes, HSP90 est souvent utilisé pour désigner les deux isoformes HSP90 $\alpha$  et HSP90 $\beta$ , car elles sont similaires dans leur structure et leur fonction [90].

Les similitudes entre ces isoformes permettent à la plupart des protéines clientes de se lier à l'une ou l'autre de ces isoformes.

<b>HSP90<math>\alpha</math> (HSP90AA1)</b>						<b>HSP90<math>\beta</math> (HSP90AB1)</b>					
10	20	30	40	50		10	20	30	40	50	
MPEEVHHGEE	EVETFAFQAE	IAQLMSLIIN	TFYSNKEIFL	RELISNASDA		MPEETQTQDQ	PMEEEEVETF	AFQAEIAQLM	SLIINTFYFN	KEIFLRELIS	
60	70	80	90	100		60	70	80	90	100	
LDKIRYESLT	DPSKLDGSGE	LKIDIIPNPQ	ERTLTLVDTG	IGMTKADLIN		HSSDALDKIR	YESLTDPSKL	DSGKELHINL	IPNKQDRTLT	IVDTGIGMTR	
110	120	130	140	150		110	120	130	140	150	
NLGTIAKSGT	KAFMEALQAG	ADISMIGQFG	VGFYSAYLVA	ERVVVITKHN		ADLINNLGTI	AKSGTKAFME	ALQAGADISM	IGQFVGFGYS	AYLVAEKVTV	
160	170	180	190	200		160	170	180	190	200	
DDEQYAWESS	AGGSFTVRAD	HGEPIGRGTG	VILHLKEDQT	EYLEERRVKE		ITKHNDDQEQ	AWESSAGGSF	TVRTDTGPEM	GRGTVKVLHL	KEDQTEYLEE	
210	220	230	240	250		210	220	230	240	250	
VVKKHSQFIG	YPITLYLEKE	REKEISDDEA	EEKGEKEEEE	DKDDEEKPKI		RRIKEIVKXH	SQFIGYPITL	FVEKERDKEV	SDDEAEKED	KEEKEKEEK	
260	270	280	290	300		260	270	280	290	300	
EDVGSDEEDD	SGKDKKKTKF	KIKEKYIDQE	ELNKTPIWT	RNPDDITQEE		ESEDKPEIED	VGSDEEEKK	DGDKKKKKKI	KEYIDQEEL	NKTKPIWTRN	
310	320	330	340	350		310	320	330	340	350	
YGEFYKSLTN	DWEDHLAVKH	FSVEGQLEFR	ALLFIPRRAP	FDLFENKXXX		PDDITNEEYG	EFYKSLTNW	EDHLAVKHFS	VEGQLEFRAL	LFVPRRAPFD	
360	370	380	390	400		360	370	380	390	400	
NNIKLYVRRV	FIMDSCDELI	PEYLNFRIGV	VSEDLPINI	SREMLQQSKI		LFENRKKKNN	IKLYVRRVPI	MDNCEELIPE	YLNFRIGVVD	SEDLPLNISR	
410	420	430	440	450		410	420	430	440	450	
LKVIRKNIVK	KCLELFSELA	EDKENYKFPY	EAFSKNLKLG	IHEDSTNRRR		EMLQQSKILK	VIRKNLVKCC	LELFTELAED	KENYKFPYEQ	PSKNIKLGIH	
460	470	480	490	500		460	470	480	490	500	
LSELLRYHTS	QSGDEMTSL	EYVSRMKETQ	KSIYYITGES	KEQVANSAPV		EDSQNRKCLS	ELLRYYTSAS	GDEMVLKDY	CTRMKENQKH	IYYITGETKD	
510	520	530	540	550		510	520	530	540	550	
ERVRKRGFEV	VYMTEPIDEY	CVQQLKEFDG	KSLVSVTKEG	LELPEDEEEK		QVANSAPVER	LRKHGLEVIY	MIEPIDEYCV	QQLKEFEGKT	LVSVTKEGLE	
560	570	580	590	600		560	570	580	590	600	
KKMEESKAKF	ENLCKLMKEI	LDKKVEKVTI	SNRLVSSPCC	IVTSTYGTWA		LPEDDEEKKK	QEEKTKFEN	LCKIMKDILE	KKVEKVVSNS	RLVTSPPCCIV	
610	620	630	640	650		610	620	630	640	650	
NMERIMKAQA	LRDNSTMGYM	MAKKHLEINP	DHPIVETLRQ	KAEADKNDKA		TSTYGTWANN	ERIMKAQALR	DNSTMGYMAA	KKHLEINPDH	SIETLRQKA	
660	670	680	690	700		660	670	680	690	700	
VKDLVVLLFE	TALLSSGFSL	EDPQTHSNRI	YRMIKLGLGI	DEDEVAABEP		EADKNKSVK	DLVILLYETA	LLSSGFSLED	PQTHANRIYR	MIKLGGLGIDE	
710	720					710	720	730			
NAAVPDEIPP	LEGDEDASRM	EEVD				DDPTADDTSA	AVTEEMPPLE	GDDTSRMEE	VD		

Figure 6 : Les séquences d'acides aminés des isoformes HSP90 $\alpha$  (HSP90AA1) et HSP90 $\beta$  (HSP90AB1) [164].

Une autre isoforme de HSP90 est GRP94 (protéine 94 régulée par le glucose). Il partage 50% d'homologie avec HSP90 cytoplasmique et se trouve dans le réticulum endoplasmique [90]. Parce qu'il s'agit de la glycoprotéine la plus abondante présente dans le réticulum endoplasmique, on l'appelle aussi endoplasmine [90].

Il est similaire aux isoformes cytoplasmiques de HSP90 dans la manière dont il se lie et hydrolyse l'ATP.

Bien qu'il ressemble aux isoformes cytoplasmiques, le fait d'être la principale protéine de liaison au calcium dans le RE et d'avoir des clients protéiques limités spécifiques distingue GRP94 de HSP90 cytoplasmique [90].

GRP94 existe en trois conformations : conformations étendues, moins étendues et fermées. La conformation étendue permet un meilleur accès aux protéines clientes et aux nucléotides pour se lier à GRP94 [90].

Comme les isoformes cytoplasmiques de HSP90, GRP94 possède les domaines NTD, MD, CTD et leur chargé.

Cependant, il existe certaines différences entre les domaines de ces isoformes. Une différence majeure entre les isoformes est la longueur et la séquence de la séquence d'acides aminés N-terminale [90]. Une autre différence est que la région de liaison chargée de GRP94 est plus courte, riche en résidus de lysine, plus acide et contient de nombreux sites de liaison au calcium [90].

TRAP1 (tumor necrosis factor receptor-associated protein 1) est une autre isoforme de HSP90, présente dans les mitochondries.

Il est principalement présent dans la matrice mitochondriale mais est également présent dans l'espace intermembranaire à un degré moindre [90].

Il partage une homologie élevée avec le HSP90 cytoplasmique et, comme le HSP90 cytoplasmique, il se compose des trois domaines principaux, qui sont les domaines NTD, MD et CTD [90].

Cependant, il n'a pas le domaine de l'éditeur de liens chargé.

Il est également dépourvu du motif MEEVD C-terminal [90]. TRAP1 a 10 fois plus d'affinité de liaison à l'ATP, et son expression peut être augmentée jusqu'à 200 fois plus par choc thermique [90].

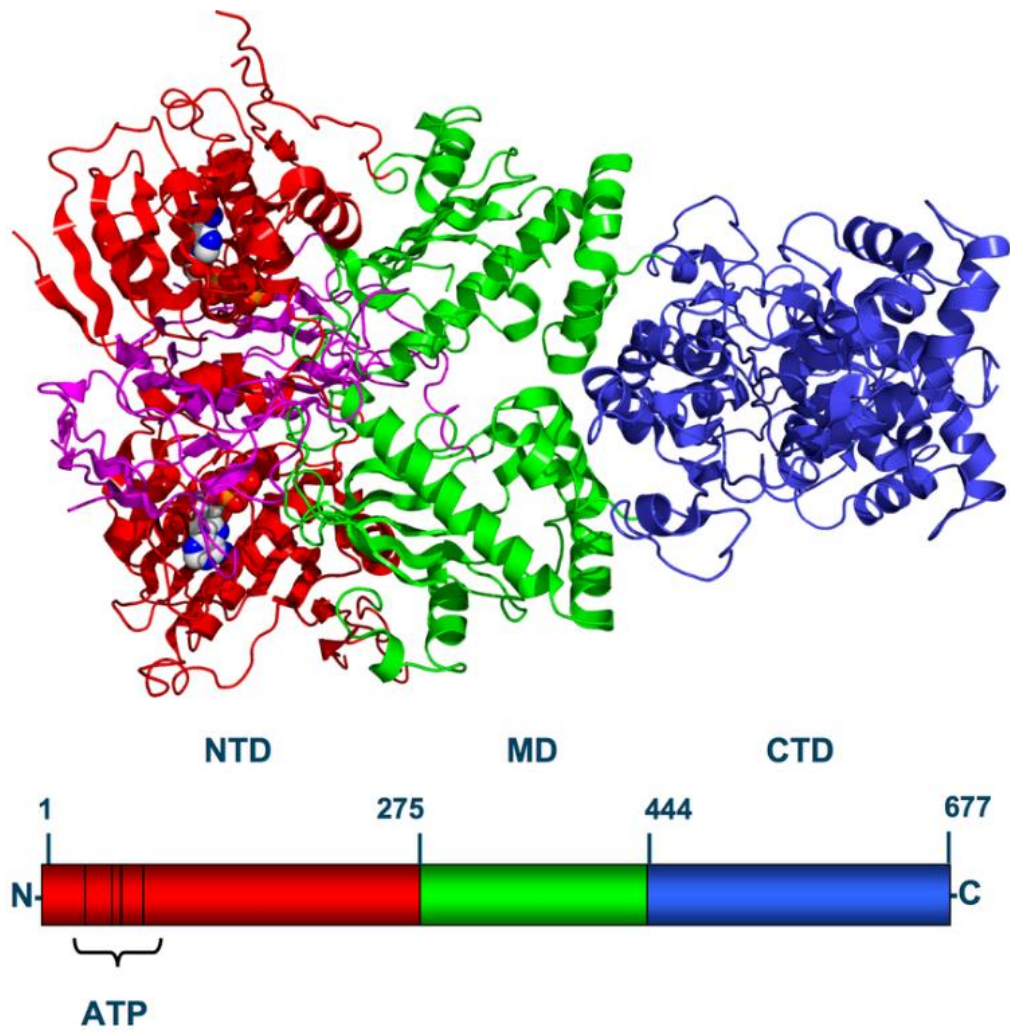


Figure 7 : Structure de domaine de la Hsp90 thermo-inductible de levure. En haut : Structure cristallographique du dimère Hsp90.[1] Les molécules d'ATP liées sont représentées par des sphères de remplissage d'espace. En bas : Séquence 1D de la levure Hsp90. NTD = domaine N-terminal (rouge), MD = domaine intermédiaire (vert), CTD = domaine C-terminal (bleu).

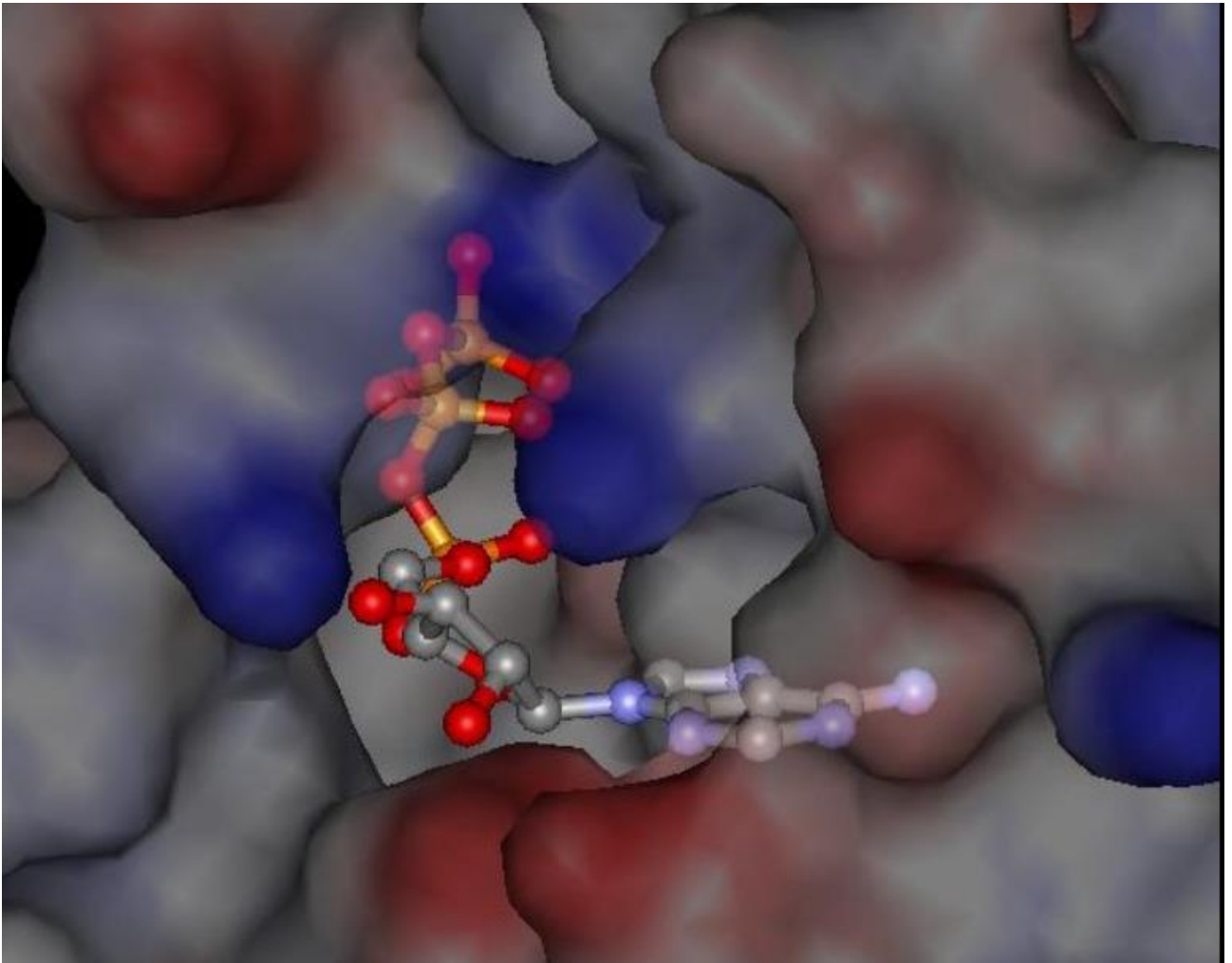


Figure 8 : Structure cristallographique de la poche de liaison à l'ATP de Hsp90 où l'ATP est représenté par une boule et un bâton (atomes de carbone = gris, azote = bleu, oxygène = rouge, phosphore = orange) et Hsp90 est représentée comme une surface solide (négativement chargé = rouge, chargé positivement = bleu, électrostatiquement neutre = gris).[91]

Hsp90 forme des homodimères où les sites de contact sont localisés dans l'extrémité C-terminale dans la conformation ouverte du dimère.

Les extrémités N-terminales entrent également en contact dans la conformation fermée du dimère.[92]

domaine N-terminal :

Le domaine N-terminal présente une homologie non seulement parmi les membres de la famille des chaperons Hsp90, mais également avec les membres de la superfamille ATPase/kinase GHKL (Gyrase, Hsp90, Histidine Kinase, MutL).[93]

Une poche de liaison commune pour l'ATP et l'inhibiteur geldanamycine est située dans le domaine N-terminal.[94][95] Les acides aminés directement impliqués dans l'interaction avec l'ATP sont Leu34, Asn37, Asp79, Asn92, Lys98, Gly121 et Phe124. De plus, Mg<sup>2+</sup> et plusieurs molécules d'eau forment des ponts entre les interactions électrostatiques et de liaison hydrogène, respectivement, entre Hsp90 et ATP. De plus, Glu33 est nécessaire pour l'hydrolyse de l'ATP.

Domaine intermédiaire :

Le domaine intermédiaire est divisé en trois régions :

un sandwich  $\alpha$ - $\beta$ - $\alpha$  à 3 couches

une hélice  $\alpha$  à 3 tours et des boucles irrégulières

une hélice  $\alpha$  à 6 tours.[96]

Le MD est également impliqué dans la liaison aux protéines clientes. Par exemple, les protéines connues pour interagir avec ce Hsp90 MD incluent PKB/Akt1, eNOS,[97][98] Aha1, Hch1. En outre, la liaison du substrat (par exemple, par Aha1 et Hch1) au MD est également connue pour augmenter l'activité ATPase de Hsp90.[99][100]

domaine C-terminal :

Le domaine C-terminal possède un autre site de liaison à l'ATP, qui devient accessible lorsque la poche de Bergerat N-terminale est occupée.[101][102]

À l'extrémité C-terminale de la protéine se trouve le site de reconnaissance du motif tétratricopeptidique répété (TPR), le pentapeptide conservé MEEVD, qui est responsable de l'interaction avec des cofacteurs tels que les immunophilines FKBP51 et FKBP52, la phosphoprotéine 1 induite par le stress ( Sti1/Hop), cyclophiline-40, PP5, Tom70 et bien d'autres.[103]

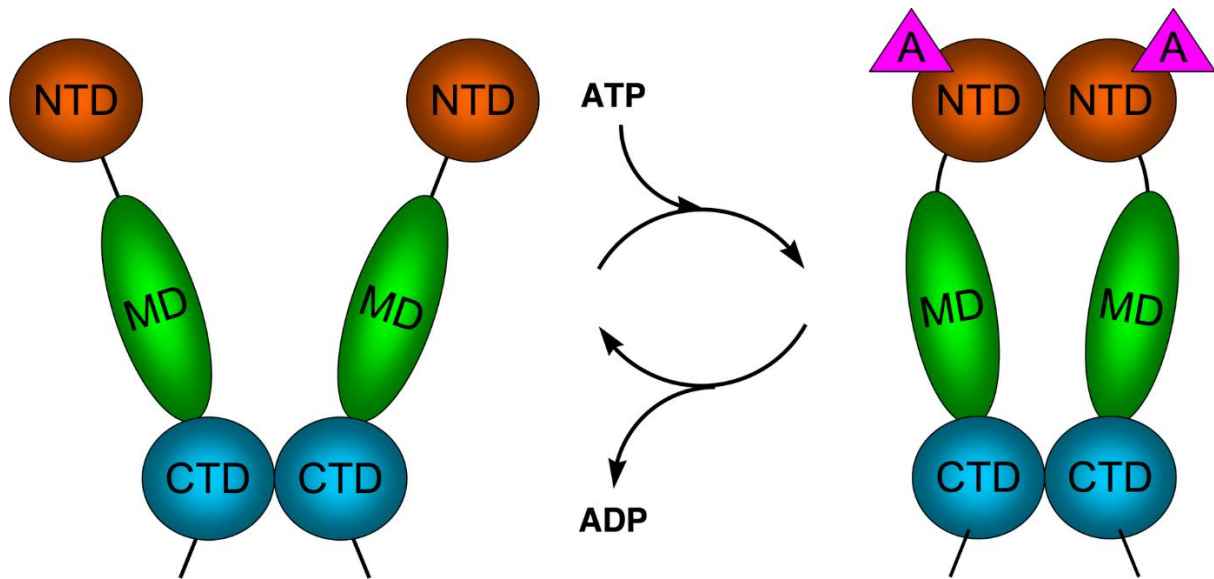


Figure 9 : Mouvement de pince de Hsp90 couplé au cycle ATPase. NTD = domaine N-terminal, MD = domaine intermédiaire, CTD = domaine C-terminal .[163]

## 9- Mécanisme ;

La protéine Hsp90 contient trois domaines fonctionnels, le domaine de liaison à l'ATP, de liaison aux protéines et de dimérisation, chacun jouant un rôle crucial dans la fonction de la protéine.

### 9-1- Liaison ATP :

La région de la protéine près de l'extrémité N-terminale possède un site de liaison à l'ATP de haute affinité.

L'ATP se lie à une fente importante sur le côté de la protéine, qui mesure 15 Å (1,5 nanomètre) de profondeur.

Cette fente a une forte affinité pour l'ATP, et lorsqu'on lui donne un substrat protéique approprié, Hsp90 clive l'ATP en ADP et Pi.

Les inhibiteurs directs de la liaison à l'ATP ou les inhibiteurs allostériques de la liaison à l'ATP ou de l'activité ATPase peuvent bloquer la fonction Hsp90.[104]

Une autre caractéristique intéressante de la région de liaison à l'ATP de Hsp90 est qu'elle a un "couvercle" qui est ouvert pendant l'état lié à l'ADP et fermé dans l'état lié à l'ATP ..[105].. Dans la conformation ouverte, le couvercle n'a pas d'interaction intraprotéique et, lorsqu'il est fermé, il entre en contact avec plusieurs résidus.[106]

La contribution de cette paupière à l'activité de Hsp90 a été sondée par mutagenèse dirigée. Le mutant Ala107Asp stabilisant la conformation fermée de la protéine par la formation de liaisons hydrogène supplémentaires augmente considérablement l'activité ATPase tout en laissant la conformation AMP+PnP inchangée.[106]

La région de liaison à l'ATPase de Hsp90 fait actuellement l'objet d'études approfondies, car c'est le principal site de liaison des médicaments ciblant cette protéine.[107]

Les médicaments antitumoraux ciblant cette section de Hsp90 comprennent les antibiotiques geldanamycine, [108] [109] herbimycine, radicicol, déguéline, [110] derrubone, [111] macbecine, [112] et bêta-lactamines. [113]

## **9-2- Liaison protéique**

La région de liaison aux protéines de Hsp90 est située vers l'extrémité C-terminale de la séquence aminée.

La protéine Hsp90 peut adopter deux états conformationnels majeurs. Le premier est un état ouvert lié à l'ATP et le second est un état fermé lié à l'ADP. Ainsi, l'hydrolyse de l'ATP entraîne ce que l'on appelle communément un changement conformationnel de « type pince » dans le site de liaison de la protéine.[114]

Hsp90, bien que dans la conformation ouverte, laisse certains résidus hydrophobes exposés, auxquels les protéines dépliées et mal repliées qui ont des régions hydrophobes inhabituelles exposées sont recrutées avec une haute affinité.[115]

Lorsqu'un substrat lié est en place, l'hydrolyse de l'ATP libérant de l'énergie par la fonction ATPase près du domaine N-terminal force des changements conformationnels qui bloquent la Hsp90 sur le substrat. [116]

Dans une réaction similaire à celle d'autres protéines de pince moléculaire comme GyrB et MutL, ce site pilote pratiquement toutes les fonctions de repliement des protéines dans lesquelles Hsp90 joue un rôle.

En revanche, MutL et GyrB fonctionnent comme des topoisomérases et utilisent une pince de charge avec un haut quantité de chaînes latérales chargées positivement qui sont électrostatiquement attirées par le squelette négatif de l'ADN.[117]



La capacité de Hsp90 à se fixer sur les protéines lui permet de remplir plusieurs fonctions, notamment l'assistance au repliement, la prévention de l'agrégation et la facilitation du transport.

## **10- Interactions avec les co-chaperons :**

Les co-chaperons sont des protéines qui aident les protéines chaperonnes.

Ils assistent HSP90 tout au long de son cycle conformationnel nécessaire au fonctionnement normal, aident à reconnaître les substrats, aident le polypeptide dans la translocation et fournissent une activité enzymatique supplémentaire [90].

La plupart des co-chaperons permettent le recrutement d'autres protéines substrats. Cependant, certains de ces co-chaperons - tels que les isomérases clientes, les phosphatases et les ligases - fournissent également une activité enzymatique supplémentaire au complexe chaperon [90].

Les protéines contenant le domaine tétratricopeptidique répété (TPR) constituent la classe prédominante de co-chaperons et se lient au motif MEEVD dans l'extrémité C-terminale de HSP90 [48,49,50,51].

Certains co-chaperons contenant un domaine TPR sont l'extrémité C-terminale de la protéine interagissant avec HSP70, Hop, la cyclophiline 40, la protéine de liaison FK506 et la protéine phosphatase 5 (PP5) [90].

En plus des co-chaperons contenant du TPR mentionnés, il existe également des co-chaperons ne contenant pas de TPR.

Un exemple est Aha 1 (activateur de HSP90 ATPase homolog 1), un co-chaperon qui augmente l'activité ATPase, améliorant ainsi la fonction de HSP90 [90].

Le cycle de division cellulaire 37 (Cdc37) est un autre de ces co-chaperons, et il est principalement lié à la formation de tumeurs en raison de son association avec des kinases mutantes qui entraînent la progression du cancer [90].

P23 est un autre co-chaperon, et sa fonction est de complexer les récepteurs hormonaux nucléaires et HSP90.

Les interactions de p23 ne sont pas aussi limitées que Cdc37, comme indiqué par la large gamme de complexes clients HSP90 dans lesquels p23 a été trouvé [90].

Alors que Aha1 augmente l'activité ATPase, les co-chaperons Cdc37, p23 et Hop inhibent l'activité ATPase, régulant ainsi HSP90 [90].

La plupart des co-chaperons mentionnés ci-dessus sont des co-chaperons de HSP90 $\alpha$  et HSP90 $\beta$  cytoplasmiques.

Contrairement aux co-chaperons HSP90 $\alpha$  et HSP90 $\beta$ , les interactions des co-chaperons isoformes GRP94 et TRAP1 ne sont que partiellement comprises en raison de leur localisation dans le réticulum endoplasmique et les mitochondries, respectivement [90].

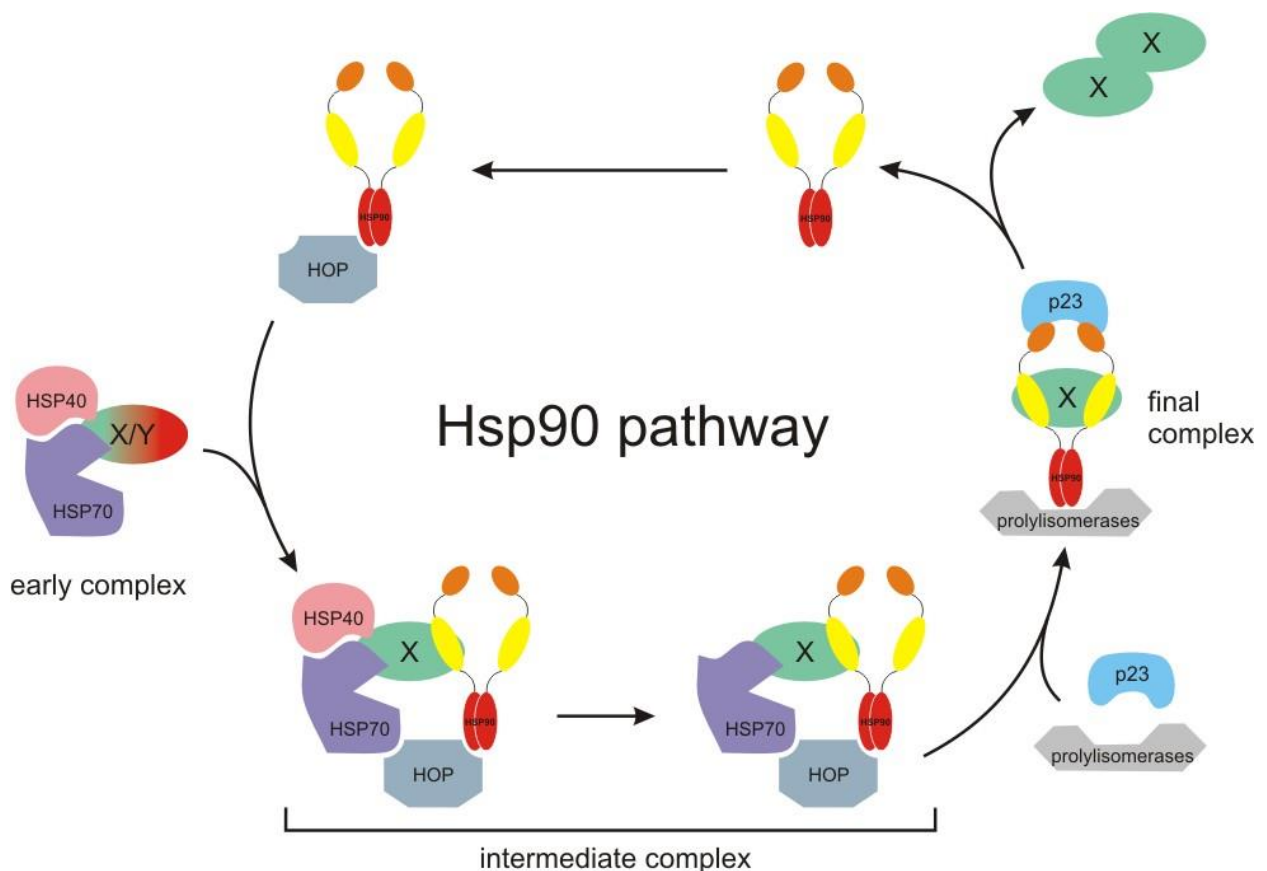


Figure10 : Le cycle chaperon Hsp90. X/Y représente une protéine immature incomplètement repliée telle qu'un récepteur de stéroïdes. Hsp40, Hsp70 et p23 sont des chaperons partenaires tandis que Hop est un co-chaperon. De plus, X-X représente un dimère de protéine mature correctement repliée. [163]

## 11- Fonction générale :

### 11-1- Cellules normales :

Dans les cellules non stressées, Hsp90 joue un certain nombre de rôles importants, notamment l'aide au repliement, au transport intracellulaire, à la maintenance et à la dégradation des protéines ainsi qu'à la facilitation de la signalisation cellulaire.

### **11-2-Repliement des protéines et rôle de chaperon :**

Hsp90 est connu pour s'associer aux structures non natives de nombreuses protéines, ce qui a conduit à la proposition selon laquelle Hsp90 est impliquée dans le repliement des protéines en général.[118]

En outre, il a été démontré que Hsp90 supprime l'agrégation d'un large éventail de protéines "clientes" ou "substrats" et agit donc comme un chaperon protecteur général.[119][120][121] Cependant, Hsp90 est un peu plus sélectif que les autres chaperons.[122]

### **11-3-Dégradation des protéines :**

Les protéines eucaryotes qui ne sont plus nécessaires ou qui sont mal repliées ou autrement endommagées sont généralement marquées pour destruction par la voie de polyubiquitination. Ces protéines ubiquitinées sont reconnues et dégradées par le protéasome 26S.[123][124] Ainsi, le protéasome 26S fait partie intégrante du mécanisme cellulaire de dégradation des protéines. De plus, un apport constant de Hsp90 fonctionnelle est nécessaire pour maintenir la structure tertiaire du protéasome.[125]

Enfin, des expériences réalisées avec des mutants Hsp90 sensibles à la chaleur et le protéasome 26S suggèrent que Hsp90 est responsable de la majeure partie, sinon de la totalité, de l'activité ATPase du protéasome [123].

### **11-4-Interaction avec les récepteurs stéroïdiens :**

Le récepteur des glucocorticoïdes (GR) est l'exemple le plus étudié d'un récepteur stéroïdien dont la fonction dépend de manière cruciale des interactions avec Hsp90.[126][127]

En l'absence de l'hormone stéroïde cortisol, GR réside dans le cytosol complexé avec plusieurs protéines chaperonnes dont Hsp90 (voir figure à droite).

Ces chaperons maintiennent le GR dans un état capable de se lier aux hormones. Un deuxième rôle de Hsp90 est de lier les immunophilines (par exemple, FKBP52) qui attachent le complexe GR à la voie de trafic de la protéine dynéine, qui transloque le récepteur activé du cytoplasme vers le noyau.[128]

Une fois dans le noyau, le GR se dimérise et se lie à des séquences spécifiques d'ADN et régule ainsi à la hausse l'expression des gènes sensibles au GR.

Hsp90 est également nécessaire au bon fonctionnement de plusieurs autres récepteurs stéroïdiens, y compris ceux responsables de la liaison de l'aldostérone,[129] des androgènes,[130] des œstrogènes,[131] et de la progestérone.[132]

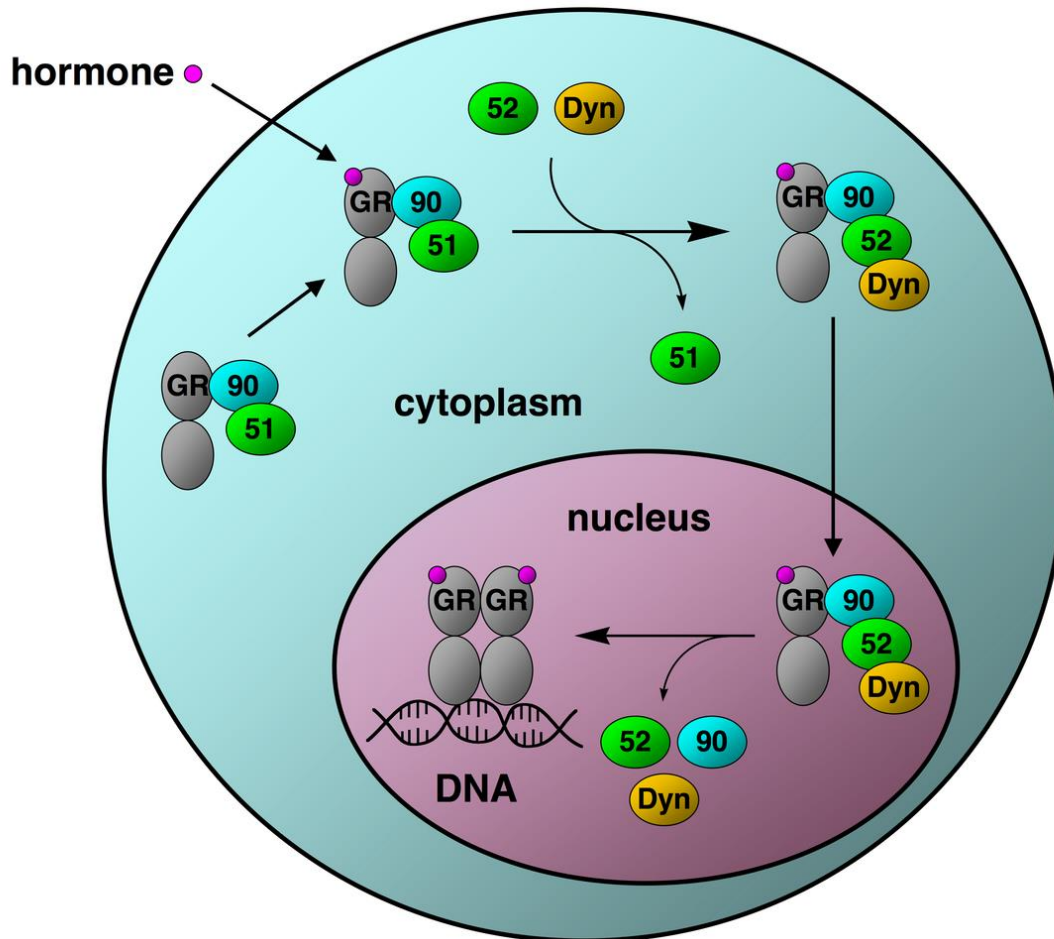


Figure 11 : de principe de la translocation du récepteur des glucocorticoïdes (GR) du cytoplasme vers le noyau assistée par Hsp90 (90).[133] Dans le cytoplasme, GR est complexé avec Hsp90 et l'immunophiline FKBP51 (51).

La liaison de l'hormone au GR provoque un changement conformationnel dans le complexe, qui se traduit par l'échange de FKBP51 contre FKBP52 (52).

FKBP52 lie à son tour la protéine motrice dynéine (dyn) qui se fixe au cytosquelette et transporte le complexe GR dans le noyau.

Une fois dans le noyau, le complexe se désassemble en libérant GR, qui se dimérise et se lie à l'ADN où il facilite la transcription de l'ADN en ARNm.

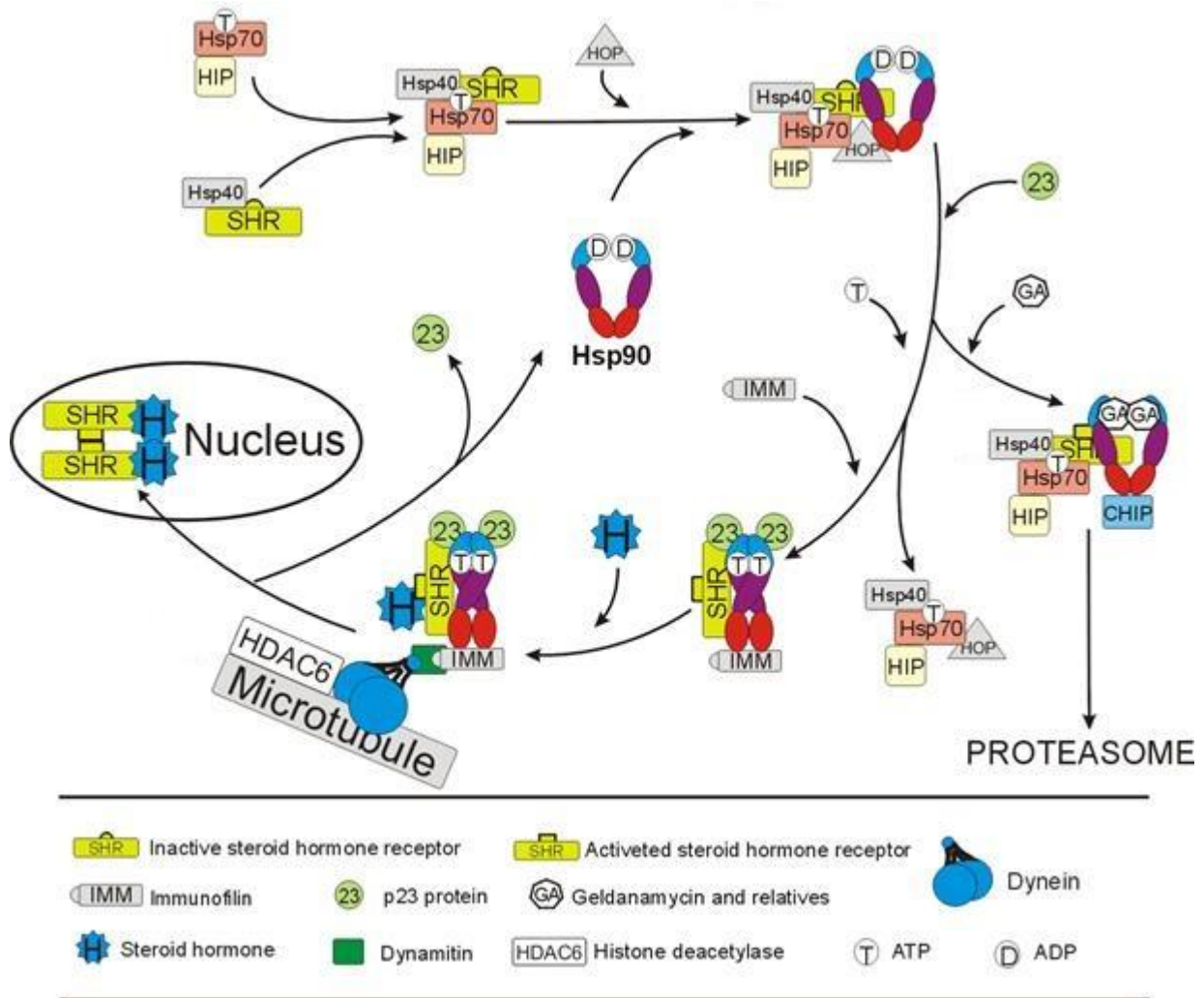


Figure12 : Cycle dépendant de HSP90 de l'activation des récepteurs d'hormones stéroïdiennes (SHR). Le complexe minimal pour l'activation des SHR comprend HSP40, HSP70, HOP (protéine organisatrice Hsp), HSP90 et la protéine p23.

Juste après la traduction, le récepteur de l'hormone stéroïde se lie à HSP40 et HSP70 (en haut, à gauche).

Ensuite, la protéine HOP (composée de domaines TPR) le délivre à HSP90. HOP assure l'interaction entre HSP70 et HSP90 via leurs domaines C-terminaux. Ce transfert n'a lieu que si ADP est lié à HSP90. L'échange d'ADP en ATP à l'intérieur de la poche N-terminale induit la dissociation de HSP70 et de ses co-chaperons du complexe qui s'associe alors avec p23 (via le côté N-terminal du dimère HSP90) qui empêche l'hydrolyse de l'ATP, et les immunophilines, qui remplacent HOP ( droite).

À ce stade, si le chaperon se lie à la geldanamycine, qui imite la liaison à l'ADP, les protéines p23 et HOP se dissocient et CHIP, une ligase d'ubiquitine E3, est attachée au complexe et le récepteur SHR est dégradé par la voie médiée par le protéasome (en bas, à droite) . Les immunophilines, FKBP51 et FKBP52, sont responsables du transport des complexes HSP90-SHR-ligand le long des fibres des microtubules (en outre, la dynamitine et la dynéine, les protéines associées aux microtubules, sont impliquées dans ce processus).

Par conséquent, une translocation d'hormones, de p53 et probablement d'autres protéines de substrat HSP90 dans le cytoplasme est rapide et étroitement contrôlée.

L'hydrolyse de l'ATP à l'intérieur de la poche de liaison aux nucléotides HSP90 conduit à la dissociation du complexe. Ensuite, les récepteurs d'hormones stéroïdes se dimérisent et sont transloqués vers le noyau (en bas, à gauche).

Par la suite, les complexes SHR-hormone se lient à des séquences d'ADN particulières dans les promoteurs de gènes sensibles aux hormones pour contrôler leur transcription.

Il convient de souligner que le mouvement des SHR à l'intérieur du noyau dépend également de HSP90 et de l'ATP.

Mais on ne sait pas si les complexes HSP90-HSP70-SHR peuvent être transmis à travers les pores de l'enveloppe nucléaire dans leur ensemble ou pourraient faire la navette entre des complexes moléculaires HSP90 séparés des deux côtés de l'enveloppe nucléaire [134].

### **11-5-Cellules cancéreuses :**

Les cellules cancéreuses surexpriment un certain nombre de protéines, y compris les récepteurs du facteur de croissance, tels que l'EGFR, [135] ou les protéines de transduction du signal telles que PI3K et AKT (l'inhibition de ces protéines peut déclencher l'apoptose). Hsp90 stabilise divers récepteurs du facteur de croissance [136] et certaines molécules de signalisation, notamment les protéines PI3K et AKT. Par conséquent, l'inhibition de Hsp90 régule à la baisse la voie PI3K/AKT conduisant à une régulation à la baisse de la protéine anti-apoptotique Bcl-w entraînant l'apoptose des cellules cancéreuses et sénescences.[137][138][139]

Fait intéressant, la perturbation de HSP90 avec des nano-thérapeutiques a été impliquée dans le ciblage de la résistance induite par les médicaments et soulage la suppression des cellules immunitaires Natural Killer (NK) dans le cancer du sein.[140]

Un autre rôle important de Hsp90 dans le cancer est la stabilisation de protéines mutantes telles que v-Src, l'oncogène de fusion Bcr/Abl et les formes mutantes de p53 qui apparaissent lors de la transformation cellulaire.

Il semble que Hsp90 puisse agir comme un "protecteur" de protéines moins stables produites par des mutations de l'ADN.[141]

Hsp90 est également nécessaire pour l'induction du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) et de l'oxyde nitrique synthase (NOS).[142]

Les deux sont importants pour l'angiogenèse de novo qui est nécessaire à la croissance tumorale au-delà de la limite de la distance de diffusion de l'oxygène dans les tissus.[143]

Il favorise également l'étape d'invasion des métastases en aidant la métalloprotéinase matricielle MMP2.[144] Avec ses co-chaperons, Hsp90 module l'apoptose des cellules tumorales "médiée par des effets sur l'AKT,[145] les récepteurs du facteur de nécrose tumorale (TNFR) et la fonction du facteur nucléaire- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)".[146]

En outre, Hsp90 participe à de nombreux processus clés de l'oncogenèse tels que l'autosuffisance en signaux de croissance, la stabilisation des protéines mutantes, l'angiogenèse et les métastases.

## **12- Cytosolique Hsp90 :**

Chez les mammifères, il existe deux isoformes cytosoliques de Hsp90 : Hsp90 $\alpha$  et Hsp90 $\beta$  [ 147 ].

Les Hsp90 $\alpha$  et Hsp90 $\beta$  humaines sont respectivement codées par les gènes HSP90AA1 et HSP90AB1 [ 147 ].

Hsp90 $\alpha$  a été la première Hsp90 à être purifiée à partir de cellules HeLa soumises à un stress thermique [ 147].

Plus tard, Hsp90 $\beta$  a été cloné sur la base de l'homologie avec Hsp90 $\alpha$  [ 147 ].

Il y a des millions d'années, Hsp90 $\alpha$  et Hsp90 $\beta$  provenaient d'une duplication de gènes [ 147 ]. Ces deux isoformes cytosoliques de Hsp90 sont hautement homologues, avec environ 84 % d'identité de séquence (pour 732 et 724 acides aminés, respectivement) [ 147].

Il existe cinq séquences de signature hautement conservées.

Trois sont dans le domaine N-terminal et deux sont dans le domaine intermédiaire, comprenant les acides aminés 38–59, 106–114 et 130–145, et 360–370 et 387–401, respectivement [147].

Ce qui rend ces deux isoformes différentes dans la structure est que Hsp90 $\alpha$  contient l'extension de 9 acides aminés TQTQDQPME dans les résidus N-terminaux 4 à 12, qui est remplacé dans Hsp90 $\beta$  par le segment de 4 acides aminés VHHG [147].

Hsp90 $\beta$  possède également la séquence de signature unique LKID (résidus 71 à 74), qui n'est présente dans aucune autre HSP [147].

Les deux isoformes fonctionnent comme des homodimères [147].

Fait intéressant, la formation relativement faible de dimères de la Hsp90 $\beta$  humaine peut être attribuée à deux différences d'acides aminés par rapport à la Hsp90 $\alpha$  [147].

Bien qu'il existe des preuves pour les vertébrés que certains hétérodimères isoformes existent également [147], l'analyse par spectrométrie de masse n'a révélé aucun hétérodimère  $\alpha$ - $\beta$  [147] et la Hsp90 $\beta$  immobilisée sur sépharose ne retire que  $\beta$  [147].

Alors que chez *S. cerevisiae*, les isoformes de Hsp90 forment facilement des hétérodimères à la fois in vitro et in vivo [147], cela est défavorisé chez l'homme [147].

Par conséquent, il reste à étudier dans quelle mesure les hétérodimères isoformes cytosoliques existent dans les organismes multicellulaires, ce qui régule l'équilibre entre les homodimères et les hétérodimères, et s'ils ont des fonctions distinctes.



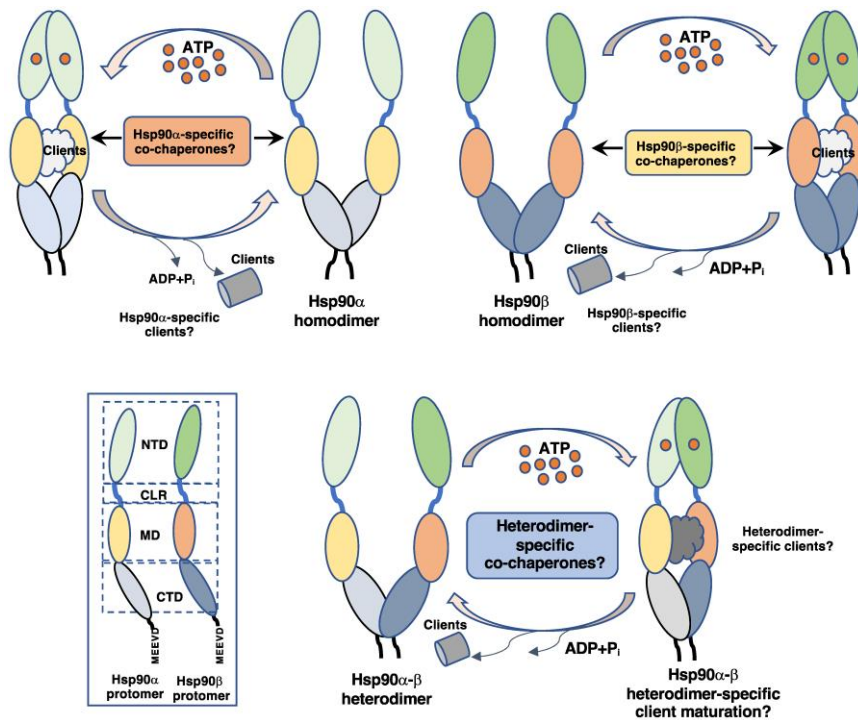


Figure 13 : Représentation schématique du cycle chaperon moléculaire de Hsp90α et Hsp90β, soit sous forme d'homodimères isoformes, soit hypothétiquement sous forme d'hétérodimères isoformes. NTD, MD et CTD, domaines N-terminal, moyen et C-terminal, respectivement ; CLR, région de liaison chargée. [ 147].

### 13- Fonctions spécifiques à Hsp90β :

Au cours de l'évolution, le gène HSP90AB1 a évolué pour être exprimé de manière plus ou moins constitutive, vraisemblablement pour soutenir les activités essentielles d'entretien cellulaire.

La létalité embryonnaire du knock-out de la souris peut être le reflet de cela [ 147]. Il a été démontré que Hsp90β jouait un rôle dans la différenciation des trophoblastes et que les embryons de souris homozygotes déficients en Hsp90β avec une expression normale de Hsp90α ne se différenciaient pas pour former des labyrinthes placentaires.

Cela a entraîné une létalité au-delà du 9e jour du développement embryonnaire.

Bien que l'on puisse supposer que cela indiquait un rôle de ménage pour Hsp90β, il a également été suggéré que l'arrêt du développement pourrait être dû à un client critique défectueux et potentiellement dépendant de Hsp90β, tel que le récepteur de la protéine morphogénétique osseuse.

Fait intéressant, il a été démontré que Hsp90 $\beta$  régule la pluripotence des cellules souches embryonnaires via la régulation de la transcription de Nanog via une interaction avec STAT3 [ 147].

Ainsi, il reste à déterminer si le développement des mammifères dépend vraiment spécifiquement de Hsp90 $\beta$  pour les raisons susmentionnées ou s'il dépend d'un niveau seuil de Hsp90 totale.

Hsp90 $\beta$  semble avoir un rôle exclusif dans la différenciation et la régénération des cellules musculaires chez la souris [ 147 ].

Nous avons montré qu'au cours de la différenciation des muscles squelettiques chez la souris, il existe un commutateur d'isoforme Hsp90 unique [ 147 ].

Lorsque les myoblastes de souris se différencient en myotubes, Hsp90 $\alpha$  disparaît et il ne reste que Hsp90 $\beta$ .

Hsp90 $\beta$  interagit avec le co-chaperon Hsp90 spécifique au muscle Aarsd1L pour soutenir la différenciation des myotubes.

Au fur et à mesure que ceux-ci se différencient, Aarsd1L remplace le cochaperon omniprésent p23.

Plus tard, He et ses collègues ont découvert l'importance de Hsp90 $\beta$  dans la régénération musculaire après une lésion tissulaire [ 147].

Ils ont découvert que dans un modèle de lésion musculaire chez la souris, l'isoforme Hsp90 $\beta$ , mais pas Hsp90 $\alpha$ , était fortement élevée au cours des premiers jours suivant la blessure.

Les niveaux d'expression de Hsp90 $\beta$  se sont normalisés lorsque la myogenèse active a finalement cessé. Suite à une lésion musculaire, la sénescence persistante dépendante de p53 altère la réparation musculaire.

Pendant la régénération, Hsp90 $\beta$  interagit avec la protéine MDM2 inhibitrice de p53 pour supprimer la sénescence dépendante de p53 du muscle lésé.

La dégénérescence du muscle squelettique est l'une des caractéristiques du vieillissement chez l'homme [ 147 ]. La réduction des cellules souches musculaires quiescentes par la sénescence entraîne le déclin de la régénération musculaire chez les souris âgées [ 147].

Par conséquent, l'amélioration de l'activité Hsp90 $\beta$  pourrait protéger les fibres musculaires pendant le vieillissement.

Hsp90 $\beta$  est impliquée dans le contrôle de la formation des cellules progénitrices endodermiques et du développement du foie [ 147 ].

Pour la formation des hépatocytes, le facteur de transcription facteur nucléaire hépatocytaire 4 $\alpha$  (HNF4 $\alpha$ ) est essentiel [ 147 ].

Hsp90 $\beta$  interagit avec HNF4 $\alpha$  pour réguler sa demi-vie et est donc directement liée à la formation d'hépatocytes à partir de cellules progénitrices.

Le foie est le principal organe impliqué dans le métabolisme des nutriments. Sans surprise, la fonction spécifique de Hsp90 $\beta$  dans la formation du foie la relie davantage à différents troubles métaboliques. Hsp90 $\beta$  est impliqué dans le métabolisme du glucose et du cholestérol [ 147 ].

Dans les myoblastes du muscle squelettique humain et dans un modèle murin d'obésité induite par l'alimentation, Hsp90 $\beta$  s'est avérée réguler le métabolisme du glucose et la signalisation de l'insuline.

Des études ont montré que l'inactivation de Hsp90 $\beta$  améliore la tolérance au glucose, modifie l'expression de gènes métaboliques clés et améliore l'activité du complexe pyruvate déshydrogénase.

De plus, Hsp90 $\beta$  est essentielle à l'homéostasie lipidique en régulant le métabolisme des acides gras et du cholestérol [ 147 ]

L'épuisement de Hsp90 $\beta$  favorise la dégradation des protéines matures de liaison aux éléments régulateurs du stérol par la voie Akt-GSK3 $\beta$ -FBW7, et diminue donc la teneur en lipides neutres et en cholestérol dans le corps [ 147 ].

Une autre fonction importante spécifique à l'isoforme de Hsp90 $\beta$  est la régulation de la réactivité à la vitamine D [ 147 ].

Dans l'intestin, les entérocytes ont besoin de Hsp90 $\beta$  pour une réactivité optimale de la vitamine D en régulant la signalisation du récepteur de la vitamine D (VDR).

Il a été observé que la suppression de Hsp90 $\beta$  entraînait une réduction de l'activité transcriptionnelle médiée par la vitamine D.

Il convient de noter que VDR est un membre de la famille des récepteurs nucléaires des facteurs de transcription, qui comprend certains des clients Hsp90 les plus prototypiques, tels que les récepteurs stéroïdiens.

Hsp90 $\beta$  est nécessaire au maintien de la jonction neuromusculaire (NMJ) [147].

Rapsyn, une protéine interagissant avec les récepteurs de l'acétylcholine, est essentielle à la formation des synapses [147].

Hsp90 $\beta$  est nécessaire à la stabilisation de rapsyn et à la régulation de sa dégradation dépendante du protéasome.

Luo et ses collègues ont montré que l'inhibition de l'activité ou de l'expression de Hsp90 $\beta$  ou la perturbation de son interaction avec rapsyn altère le développement et le maintien du NMJ.

#### **14- Cibler Hsp90 $\beta$ dans différentes maladies :**

Diabète de type 2 :

Comme évoqué ci-dessus, Hsp90 $\beta$  influence les voies de régulation de la résistance à l'insuline [147].

Il a été observé que lorsque Hsp90 $\beta$  était inhibée, les taux de glucose sanguin étaient réduits. Ainsi, cibler Hsp90 $\beta$  pourrait aider à réguler la glycémie des patients atteints de diabète de type 2.

Chez les patients atteints de stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD), les taux de Hsp90 $\beta$  dans le sérum se sont avérés très élevés [147].

Balanescu et ses collègues ont mené une étude sur des enfants en surpoids et obèses et ont constaté que la Hsp90 $\beta$  sérique, mais pas la Hsp90 $\alpha$ , était significativement plus élevée.

Cela suggère que le rapport de Hsp90 $\alpha$  et Hsp90 $\beta$  dans le sérum sanguin pourrait être un biomarqueur pronostique de la NAFLD.

Jing et ses collègues ont découvert que le nouvel inhibiteur sélectif de Hsp90 $\beta$ , la coryline, réduisait de manière significative la teneur en lipides dans les lignées cellulaires hépatiques et les hépatocytes primaires humains [147].

Dans des modèles animaux, ils ont observé que la coryline améliorait la NAFLD, le diabète de type 2 et l'athérosclérose.

la maladie d'Alzheimer :

Des niveaux réduits de Hsp90 $\alpha$  et de Hsp90 $\beta$  sont associés à la mort des cellules neuronales chez les patients souffrant de la maladie d'Alzheimer (MA) [ 147 ]. Cependant, Zhang et ses collègues ont montré que le stress induit par A $\beta$  diminuait les niveaux de Hsp90 $\beta$ , mais pas de Hsp90 $\alpha$ .

Des niveaux réduits de Hsp90 $\beta$  étaient fortement corrélés avec une abondance réduite de son client et récepteur nucléaire PPAR $\gamma$ , et des gènes liés à la clairance A $\beta$  régulés à la baisse dans la microglie primaire [ 147].

Cette observation passionnante les a amenés à réfléchir à l'augmentation des niveaux de Hsp90 $\beta$  dans le modèle de souris AD. En utilisant le composé naturel jujuboside A (JuA), ils ont observé qu'il restaurait de manière significative le contenu et la fonction de PPAR $\gamma$  en améliorant l'expression de Hsp90 $\beta$ .

Les souris AD traitées avec JuA présentaient une déficience cognitive améliorée.

Dans une étude récente, Wan et ses collègues ont montré des niveaux réduits de Hsp90 $\alpha$  et de Hsp90 $\beta$  dans la région hippocampique CA3 du modèle murin APP/PS1 de la maladie d'Alzheimer [ 147]

Cependant, la surexpression de Hsp90 $\beta$ , mais pas de Hsp90 $\alpha$ , a amélioré la perte neuronale et synaptique, suggérant que Hsp90 $\beta$  a un rôle neuroprotecteur spécifique.

Un traitement préventif à haute dose avec de l'érythropoïétine (EPO) a atténué l'astrocytose induite par l'A $\beta$  et augmenté la néovascularisation dans l'hippocampe du modèle murin AD.

Il a inversé la perte de la colonne vertébrale dendritique via une régulation positive de Hsp90 $\beta$ .

Par conséquent, l'induction de l'expression de Hsp90 $\beta$  pourrait être explorée pour le traitement des patients atteints de MA.

La réponse immunitaire innée :

Hsp90 $\beta$  améliore la réponse immunitaire innée [ 147 ].

Hsp90 $\beta$  interagit avec le stimulateur protéique des gènes de l'interféron (STING) et stabilise les niveaux de protéine STING en réponse aux infections microbiennes, permettant l'activation de la cible en aval TBK1, qui est elle-même un interacteur Hsp90, pour induire des réponses IFN.

Cela suggère que l'induction de Hsp90 $\beta$  pourrait également être efficace contre les virus à ADN et les infections microbiennes.

Sato et ses collègues ont montré que des niveaux réduits de Hsp90 $\beta$  sont associés à des infections par le virus de l'herpès simplex-1 (HSV-1) et *Listeria monocytogenes*, ce qui suggère que l'augmentation des niveaux et/ou de l'activité de Hsp90 $\beta$  peut protéger contre les infections pathogènes.

Si tel est le cas, l'EPO pourrait également être bénéfique contre les infections bactériennes et virales..

Cancer :

Bien que ce soit principalement Hsp90 $\alpha$  qui soit surexprimé dans différents types de cancer, dans certains cancers, c'est Hsp90 $\beta$ , qui semble être responsable de la survie des cellules cancéreuses [ 147 ].

Comme indiqué ci-dessus, certains tissus dépendent principalement de Hsp90 $\beta$ . Il semble que les cancers de ces tissus entretiennent souvent cette dépendance.

Par exemple :

les hépatocytes ont principalement besoin de Hsp90 $\beta$ , tout comme les cellules de carcinome hépatocellulaire, notamment pour l'angiogenèse médiée par le récepteur du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGFR) [ 147].

Dans d'autres cancers, Hsp90 $\alpha$  régule l'angiogenèse médiée par le VEGFR. Meng et ses collègues ont évalué l'angiogenèse dans le carcinome hépatocellulaire lors de l'inactivation de Hsp90 $\alpha$  ou Hsp90 $\beta$ , en inhibant l'isoforme restante avec un inhibiteur de Hsp90.

Ils ont observé que l'angiogenèse médiée par le VEGFR était inhibée par un inhibiteur de Hsp90 $\beta$ .

Heck et ses collègues ont montré que l'inhibition sélective de Hsp90 $\beta$  dans les cellules de leucémie myéloïde humaine entraîne l'apoptose [ 147].

Les interactions Hsp90 $\beta$ -apoptosome contribuent également à la chimiorésistance dans les leucémies [ 147 ].

L'inhibition de Hsp90 $\beta$  pourrait tuer les cellules leucémiques en favorisant la dégradation du client Hsp90 HIF1 $\alpha$  [ 147].

Heck et ses collègues ont traité des cellules avec l'inhibiteur sélectif de Hsp90 $\alpha$  KUNA110, l'inhibiteur sélectif de Hsp90 $\beta$  KUNB105 ou l'inhibiteur pan-Hsp90 17AAG.

L'inhibition de Hsp90 $\alpha$  n'a pas déclenché la mort cellulaire. Cependant, l'inhibition de Hsp90 $\beta$  a entraîné la mort cellulaire par dégradation de HIF1 $\alpha$  induite par le TNF $\alpha$  et le TRAIL. HIF1 $\alpha$  est un interacteur des deux isoformes de Hsp90 (voir <https://www.picard.ch/Hsp90Int> , consulté le 5 août 2022), et pourtant l'inhibition de Hsp90 $\beta$ , mais pas de Hsp90 $\alpha$ , a conduit à la dégradation de HIF1 $\alpha$  dans les cellules leucémiques.

Ce résultat surprenant illustre le potentiel d'inhibition spécifique de l'isoforme Hsp90 pour le traitement de certains types de cancer.

Dans le sarcome d'Ewing, il a été constaté que l'inhibition de Hsp90 $\beta$  entraîne une diminution de l'expression de la protéine 1 associée à la résistance multidrogue associée aux mitochondries [ 105

Dans l'ostéosarcome, la Hsp90 $\beta$  extracellulaire sécrétée par les cellules MG63 s'est avérée associée à la survie des cellules cancéreuses [ 147 ].

Cela pourrait être lié à l'observation que les cellules musculaires de la souris dépendent uniquement de Hsp90 $\beta$  pour la différenciation et la régénération

Ces preuves suggèrent collectivement que le sarcome dépend principalement de Hsp90 $\beta$  [ 147].

Cancer de poumon :

Hsp90 $\beta$  joue un rôle dans la résistance aux médicaments dans le cancer du poumon.

La glycoprotéine P (P-gp) codée par le gène MDR1 est responsable de l'exportation des médicaments à partir des cellules. Kim et ses collègues ont montré que la phosphorylation médiée par la caséine kinase 2 (CK2) de Hsp90 $\beta$  et la stabilisation ultérieure de son client PXR, un récepteur nucléaire, est un mécanisme clé dans la régulation de l'expression de MDR1 [147 ] .

L'inhibition de CK2 et de Hsp90 $\beta$  améliore la régulation à la baisse de l'expression de PXR et de P-gp. Une expression élevée de Hsp90 $\beta$  est également associée à une faible survie chez les patients atteints d'un cancer du poumon non à petites cellules résecable.

## 15- Fonctions spécifiques au Hsp90 $\alpha$

L'isoforme inductible par le stress Hsp90 $\alpha$  aide les cellules à s'adapter au stress [ 147 ]. La plupart des fonctions de Hsp90 $\alpha$  sont ainsi connectées aux voies de réponse au stress et aux protéines.

Contrairement à Hsp90 $\beta$ , Hsp90 $\alpha$  n'est pas nécessaire à la viabilité chez la souris [ 147 ]. Dans des conditions normales, comme indiqué ci-dessus, certains organes ont une forte abondance de Hsp90 $\alpha$ , tandis que d'autres ont des niveaux d'expression négligeables ( <https://www.proteinatlas.org/search/HSP90AA1>; consulté le 5 août 2022).

Par exemple, le cerveau a les niveaux les plus élevés d'expression d'ARNm de Hsp90 $\alpha$ , qui sont plusieurs fois plus élevés que tout autre organe.

Cependant, les niveaux les plus élevés d'ARNm ne sont pas traduits en protéines car le cerveau n'exprime que des quantités modérées de protéine Hsp90 $\alpha$ .

Une étude récente indique que le cerveau humain a une température plus élevée que la température corporelle habituelle allant de 36,1 à 40,9 °C de manière circadienne [ 147].

De plus, la température du cerveau varie selon l'âge, le sexe, le cycle menstruel et la région du cerveau.

Il est concevable que de telles augmentations de température dans le cerveau puissent déclencher une réponse de choc thermique, générant temporairement plus de protéine Hsp90 $\alpha$  à partir des niveaux déjà élevés d'ARNm Hsp90 $\alpha$ .

Étant donné que les cellules cérébrales sont confrontées à une fluctuation de température substantielle, les protéines peuvent être plus sujettes au mauvais repliement, et les cellules cérébrales peuvent donc avoir besoin de quantités plus élevées de Hsp90 $\alpha$  dans certaines circonstances.

Si l'on considère les organes reproducteurs, les testicules et les trompes de Fallope ont des niveaux élevés d'expression de Hsp90 $\alpha$ .

Au niveau cellulaire, les cellules basales de la prostate ont la plus grande quantité d'ARNm de Hsp90 $\alpha$  parmi tous les types de cellules.

Les spermatoocytes ont également une Hsp90 $\alpha$  élevée. Cela suggère que les organes reproducteurs nécessitent Hsp90 $\alpha$ .



Plus tôt, notre laboratoire a établi que Hsp90 $\alpha$  est nécessaire à la fertilité masculine chez la souris [147].

Les souris sans Hsp90 $\alpha$  peuvent survivre normalement mais sont stériles en raison d'une incapacité totale à produire du sperme.

Fait intéressant, les souris knock-out Hsp90 $\alpha$  développent des organes reproducteurs normaux, mais la spermatogenèse s'arrête spécifiquement au stade pachytène de la méiose I. À l'appui de ces découvertes, Kajiwara et ses collègues ont ensuite complété ces découvertes en démontrant que la spermatogenèse s'arrête également lorsque le gène Hsp90 $\alpha$  est conditionnellement supprimé au stade adulte [147].

Curieusement, Hsp90 $\alpha$  contrôle la biogenèse des ARN fœtaux interagissant avec PIWI, qui agissent contre les transposons endogènes lors du développement des cellules germinales mâles chez les mammifères [147].

Le knock-out Hsp90 $\alpha$  provoque une réduction des niveaux de HIF1 $\alpha$  dans les testicules, ce qui peut également contribuer à bloquer la production de spermatozoïdes et à provoquer l'infertilité [147].

La régulation négative de Hsp90 $\beta$  a eu peu d'effet sur l'accumulation induite par l'hypoxie de HIF1 $\alpha$ . Ainsi, HIF1 $\alpha$  est nécessaire pour une spermiogenèse appropriée, et c'est l'isoforme Hsp90 $\alpha$  qui est nécessaire pour maintenir HIF1 $\alpha$  fonctionnel, même si Hsp90 $\alpha$  et Hsp90 $\beta$  peuvent interagir avec HIF1 $\alpha$  [147].

Il reste à voir si ce rôle unique de Hsp90 $\alpha$  a quelque chose à voir avec la physiologie spécifique et la sensibilité à la température du testicule.

L'oogenèse peut également être largement dépendante de l'isoforme Hsp90 $\alpha$ . Metchat et ses collègues ont montré que des niveaux extrêmement faibles de Hsp90 $\alpha$  étaient en corrélation avec les défauts de développement des ovocytes hsf1 -/- [147]. Alors que les femelles hsf1 -/- produisent des ovocytes, elles ne portent pas d'embryons viables.

Cependant, plus tard, nous avons montré qu'aucune différence dans la production d'embryons n'était observée chez les souris femelles dépourvues de Hsp90 $\alpha$  par rapport au type sauvage [147]. Par conséquent, il est possible que les ovocytes hsf1 -/- ne se développent pas en raison d'un problème indépendant de Hsp90 $\alpha$ .

Dans la rétine humaine, les cellules en bâtonnets ont des niveaux élevés d'expression de l'ARNm de Hsp90 $\alpha$  ( <https://www.proteinatlas.org> ; consulté le 5 août 2022), qui peuvent être liés à des températures locales élevées lors d'une exposition à la lumière.

L'élévation locale de la température de la rétine humaine exposée à la lumière directe du soleil est d'environ 2 °C [ 147 ].

Il peut même tolérer une élévation locale d'au moins 10 °C [ 121 ], et pourtant, la lumière intense provoque des dommages thermiques [ 147 ]. Wu et ses collègues ont découvert que le déficit en Hsp90 $\alpha$  chez la souris pouvait entraîner une rétinite pigmentaire [ 147], une maladie rétinienne héréditaire courante impliquant une dégénérescence progressive des photorécepteurs et éventuellement la cécité.

Ils ont observé que Hsp90 $\alpha$  et Hsp90 $\beta$  étaient exprimés dans la rétine en développement de souris nouveau-nées.

Une fois la rétine entièrement développée, Hsp90 $\alpha$  est devenue l'isoforme majeure de Hsp90. Dans les photorécepteurs rétiniens, le déficit en Hsp90 $\alpha$  a provoqué la désintégration de l'appareil de Golgi et une altération du trafic intersegmentaire des vésicules.

Une analyse protéomique a identifié la protéine 1B associée aux microtubules (MAP1B) comme une protéine associée à Hsp90 $\alpha$  dans les photorécepteurs.

Le déficit en Hsp90 $\alpha$  a augmenté la dégradation de MAP1B en induisant son ubiquitination, provoquant la désacétylation de l' $\alpha$ -tubuline et la déstabilisation des microtubules, tous contribuant potentiellement à la dégénérescence des photorécepteurs.

Le muscle n'a généralement pas beaucoup d'expression de Hsp90 $\alpha$ . Cependant, parmi différents types de cellules musculaires, les cardiomyocytes ont une expression d'ARNm de Hsp90 $\alpha$  relativement élevée ( <https://www.proteinatlas.org> ; consulté le 5 août 2022).

Peterson et ses collègues ont montré que le canal potassique hERG, qui est essentiel pour la repolarisation cardiaque, interagit uniquement avec Hsp90 $\alpha$  et non avec Hsp90 $\beta$  [ 147 ].

Ils ont trouvé une relation directe entre Hsp90 $\alpha$  et le trafic de hERG. Ainsi, l'impact négatif sur hERG et la cardiotoxicité qui en résulte doivent être considérés dans le cadre de traitements avec pan-Hsp90 ou avec des inhibiteurs spécifiques de Hsp90 $\alpha$ .

La réponse aux dommages à l'ADN est assistée par Hsp90 $\alpha$ .

La protéine kinase ADN-dépendante (DNA-PK) est un composant de la machinerie de réparation de l'ADN, et c'est un client de Hsp90 $\alpha$  et Hsp90 $\beta$  [ 147 ].

Cependant, il a été montré que Hsp90 $\alpha$  est impliqué dans la réparation et l'apoptose de l'ADN médiées par l'ADN-PK, mais pas Hsp90 $\beta$  [ 147 ].

Hsp90 $\alpha$  elle-même est phosphorylée par l'ADN-PK aux thréonines 5 et 7 dans sa séquence N-terminale unique.

Quanz et ses collègues ont découvert que les dommages à l'ADN induisaient la phosphorylation de Hsp90 $\alpha$  sur les sites susmentionnés et son accumulation sur les sites de cassures double brin de l'ADN (DSB), où il s'associe à des foyers de réparation et favorise la réparation de l'ADN [ 147].

Solier et ses collègues ont montré que la Hsp90 $\alpha$  phosphorylée est située dans «l'anneau apoptotique» lors de l'induction de l'apoptose.

Bien que les deux phénomènes soient médiés par l'ADN-PK, la phosphorylation de Hsp90 $\alpha$  est nettement plus importante et plus rapide en réponse à l'apoptose qu'aux dommages à l'ADN [ 147 ].

Une connexion supplémentaire à la réponse aux dommages à l'ADN provient de l'identification des protéines de réponse aux dommages à l'ADN NBN et de la kinase mutée ataxie-télangiectasie en tant que clients Hsp90 $\alpha$  [147] .

Il est concevable que l'inhibition spécifique de Hsp90 $\alpha$  conduirait à leur déstabilisation, contribuant à une signalisation défectueuse des dommages à l'ADN, à une réparation altérée de l'ADN DSB et à une sensibilité accrue aux dommages à l'ADN.

Hsp90 $\alpha$  contrôle le comportement addictif via le récepteur opioïde  $\mu$  (MOR) [ 147 ]. Auparavant, Hsp90 s'était avéré nécessaire pour l'anti-nociception induite par les opioïdes dans le cerveau en favorisant l'activation de MAPK [ 147 ].

Le 17-AAG, un inhibiteur non sélectif de Hsp90, réduit l'anti-nociception opioïde. Dans une étude indépendante menée par Zhang et ses collègues, il a été observé que le traitement au 17-AAG réduisait l'analgésie, la tolérance et la dépendance à la morphine chez la souris [ 147]. Fait intéressant, Lei et ses collègues ont découvert plus tard que l'inhibition spécifique de Hsp90 $\alpha$  avec l'inhibiteur sélectif de Hsp90 $\alpha$  KUNA115 bloquait fortement l'anti-nociception de

la morphine chez la souris. En revanche, l'inhibition spécifique de Hsp90 $\beta$  avec l'inhibiteur KUNB106 n'a eu aucun effet sur l'anti-nociception de la morphine.

Leur observation suggère que Hsp90 $\beta$  n'est pas impliqué dans la régulation de l'anti-nociception opioïde dans le cerveau de la souris. De manière surprenante, Zhang et ses collègues ont démontré par co-immunoprécipitation que Hsp90 $\beta$  et non Hsp90 $\alpha$  étaient associés à MOR dans les cellules HEK293T et SH-SY5Y [ 147].

Le 17-AAG a bloqué l'interaction Hsp90 $\beta$ -MOR et compromis la transduction du signal MOR chez la souris.

Pour l'instant, ces résultats restent contradictoires, mais si le caractère spécifique de Hsp90 $\alpha$  de cette fonction pouvait être confirmé, cela suggérerait la possibilité d'utiliser des inhibiteurs de Hsp90 $\alpha$  chez des patients psychiatriques toxicomanes.

En plus de fonctionner comme un chaperon moléculaire intracellulaire, Hsp90 $\alpha$  est également sécrétée par les cellules [ 147 ].

Toutes les cellules semblent sécréter Hsp90 $\alpha$  (eHsp90 $\alpha$ ) en réponse aux signaux de stress environnementaux, y compris la chaleur, l'hypoxie, les cytokines inflammatoires, les ROS, les agents d'oxydation et plusieurs autres stress [ 147 ].

Cependant, les kératinocytes normaux sécrètent eHsp90 $\alpha$  uniquement en réponse à une lésion tissulaire [ 147 ].

Lorsque la peau est blessée, les kératinocytes libèrent massivement eHsp90 $\alpha$  dans le lit de la plaie pour favoriser la réparation de la plaie [ 147].

Cheng et ses collègues ont proposé que eHsp90 $\alpha$  entraîne la migration vers l'intérieur des cellules dermiques dans la plaie, ce qui est essentiel pour le remodelage de la plaie et la formation de nouveaux vaisseaux sanguins [ 147 ].

Fait intéressant, cette activité cicatrisante de eHsp90 $\alpha$  ne nécessite pas de dimérisation [ 136 ] ni d'activité ATPase, qui est bien sûr essentielle pour le chaperonnage [ 147 ].

Au lieu de cela, dans ce cas, seule une partie relativement petite de eHsp90 $\alpha$  est suffisante pour déclencher la réponse, essentiellement en tant que mitogène, via la protéine 1 liée au récepteur LDL (LRP1) [147 ] .

## **16- La pertinence clinique du ciblage de Hsp90 $\alpha$ :**

Cibler spécifiquement l'isoforme Hsp90 $\alpha$  pourrait être une stratégie thérapeutique intéressante pour traiter certains cancers [ 147 ].

Les cellules cancéreuses sont continuellement soumises à des contraintes répliquatives, hypoxiques, nutritives et à plusieurs autres contraintes [ 147].

Le stress cellulaire conduit à la régulation à la hausse de l'isoforme inductible Hsp90 $\alpha$ . Par conséquent, dans la plupart des cancers, Hsp90 $\alpha$  est fortement régulé positivement.

Le knockdown de Hsp90 $\alpha$  entraîne la dégradation de plusieurs protéines clientes oncogènes, ce qui suggère que l'administration d'un inhibiteur sélectif de Hsp90 $\alpha$  contre les cancers dépendants de Hsp90 $\alpha$  pourrait être bénéfique [ 147].

Au cours de la progression du cancer, de nombreux facteurs de transcription codés par des proto-oncogènes sont soit stabilisés par Hsp90 $\alpha$ , soit induisent l'expression de Hsp90 $\alpha$ .

Par exemple, le proto-oncogène MYC induit l'expression du gène HSP90AA1 [ 147 ]. L'hormone de croissance prolactine induit l'expression de HSP90AA1 dans les cellules cancéreuses du sein via STAT5 [ 147 ].

( une nouvelle forme modifiée du récepteur de la prolactine appelée isoforme intermédiaire du récepteur de la prolactine humaine (hPRLrI) qui induit la formation de tumeurs du sein )

Cependant, le gène inductible par le stress HSP90AA1 peut être exprimé plusieurs fois plus élevé que HSP90AB1 .

Ainsi, l'équilibre de Hsp90 $\alpha$  à Hsp90 $\beta$  est spécifiquement déplacé vers Hsp90 $\alpha$  dans les cellules cancéreuses.

Il a été découvert que Hsp90 $\alpha$  représente 2 à 3 % des protéines cellulaires totales dans les cellules normales, mais jusqu'à 7 % dans certaines lignées cellulaires tumorales. [ 147 ].

Les cellules cancéreuses peuvent sécréter constitutivement Hsp90 [ 147 ], ce qui est essentiel pour renforcer leur caractère invasif [ 156 ].

Bien que Hsp90 $\beta$  puisse également être sécrétée par certaines cellules, c'est eHsp90 $\alpha$  et non eHsp90 $\beta$  qui est requise pour l'invasion dans un panel de lignées cellulaires cancéreuses. eHsp90 $\alpha$  active la métalloprotéinase-2 matricielle, qui peut être l'un des mécanismes sous-jacents expliquant l'invasivité accrue et la métastase des cellules cancéreuses [ 147 ].

La translocation de Hsp90 $\alpha$  vers la membrane plasmique est stimulée par la signalisation PLC $\gamma$ 1-PKC $\gamma$  [ 158], et par le mutant p53 via la sécrétion de Hsp90 $\alpha$  médiée par la protéine de couplage Rab [ 159 ].

Lorsque Hsp90 $\alpha$  est inhibée, le caractère invasif du cancer diminue [147 ].

Les taux plasmatiques d'eHsp90 $\alpha$  chez les patients atteints de divers cancers sont en corrélation avec le stade du cancer [ 147 ].

Par exemple, les taux plasmatiques de Hsp90 $\alpha$  étaient augmentés chez les patients atteints de tumeur épithéliale thymique, de carcinome hépatocellulaire et de cancer colorectal [ 147 ]. Cela suggère que les taux sériques de Hsp90 $\alpha$  peuvent être un marqueur pronostique chez les patients avant et pendant le traitement.

Hsp90 $\alpha$  joue un rôle important dans la fibrose pulmonaire idiopathique (FPI) [ 147 ].

Bellaye et ses collègues ont montré comment Hsp90 $\alpha$  et Hsp90 $\beta$  favorisent de manière synergique la persistance des myofibroblastes dans la fibrose pulmonaire [ 147].

Hsp90 $\alpha$ , mais pas Hsp90 $\beta$ , est sécrétée par les fibroblastes pulmonaires de l'IPF en raison de la rigidité des tissus et de l'étirement mécanique.

Étonnamment, bien que Hsp90 $\beta$  ne soit pas sécrétée, elle se lie à LRP1 de manière intracellulaire, stabilisant ainsi le récepteur eHsp90 et favorisant la signalisation LRP1, qui se propage en induisant la sécrétion de Hsp90 $\alpha$ .

L'inhibition de eHsp90 $\alpha$ , qui est augmentée dans le sérum des patients atteints de FPI, pourrait être bénéfique dans le traitement de la FPI. L'inhibiteur de HSP90 non perméable aux cellules HS30 a inhibé de manière significative la colocalisation de eHSP90 $\alpha$  et LRP1, qui a été significativement augmentée chez les patients atteints de FPI modérée et sévère. Chez les patients souffrant de maladie pulmonaire obstructive chronique, les taux de Hsp90 $\alpha$  étaient également élevés dans le sérum [ 147], suggérant à nouveau que eHsp90 $\alpha$  pourrait être utilisé comme biomarqueur de la progression de la maladie.

Le dysfonctionnement de la barrière épithéliale des voies respiratoires est étroitement lié à la pathogenèse de l'asthme, et eHsp90 $\alpha$  participe à l'inflammation dans l'asthme [ 147 ].

Les acariens de la poussière domestique (HDM) induisent un dysfonctionnement de la barrière épithéliale des voies respiratoires.

Les souris atteintes d'asthme induit par HDM ont des niveaux élevés de eHsp90 $\alpha$  dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire et le sérum, et eHsp90 $\alpha$  peut provoquer l'hyperperméabilité épithéliale bronchique.

1G6-D7, un anticorps hautement sélectif et inhibiteur contre Hsp90 $\alpha$ , s'est avéré protéger contre le dysfonctionnement de la barrière épithéliale des voies respiratoires induit par HDM. Cela suggère que la thérapie ciblée sur eHsp90 $\alpha$  pourrait être un traitement potentiel de l'asthme.

Wang et ses collègues ont découvert que le HSV-1 survivait à l'intérieur des cellules en utilisant la Hsp90 $\alpha$  de l'hôte. Hsp90 $\alpha$  stabilise la protéine virion 16 (VP16) et favorise la transactivation médiée par VP16 des gènes HSV- $\alpha$  [ 147 ]. Lorsque Hsp90 $\alpha$  a été renversé ou inhibé pharmacologiquement, cela a entraîné une réduction des niveaux de VP16 et des protéines codées par les gènes HSV- $\alpha$ . Considérant que Hsp90 $\beta$  peut avoir des effets opposés sur les infections à HSV-1, puisqu'elles sont associées à une baisse des niveaux de Hsp90 $\beta$  (voir ci-dessus), des investigations approfondies avec des inhibiteurs hautement sélectifs des isoformes de Hsp90 sont clairement justifiées afin de développer des thérapies basées sur Hsp90.

Les mutations de perte de fonction dans le gène codant pour le canal potassique voltage-dépendant KCNQ4 provoquent DFNA2, un sous-type de surdité autosomique dominante non syndromique caractérisée par une perte auditive neurosensorielle progressive.

Les knockdowns des deux isoformes de Hsp90 ont eu des effets opposés sur les niveaux totaux de KCNQ4 [147].

Plus précisément, le knockdown de Hsp90 $\beta$  a entraîné une diminution spectaculaire, tandis que le knockdown de Hsp90 $\alpha$  a entraîné une augmentation marquée.

Conformément à ces résultats, la surexpression de Hsp90 $\beta$  a augmenté les niveaux de KCNQ4, tandis que la régulation à la hausse de l'expression de Hsp90 $\alpha$  a diminué les niveaux totaux de KCNQ4.

Cela suggère qu'une combinaison d'inhibiteur de Hsp90 $\alpha$  et d'activateur de Hsp90 $\beta$  pourrait potentiellement traiter DFNA2.

Hsp90 $\alpha$  a également un lien avec le diabète. Il a été démontré qu'un glucose élevé induisait la translocation de Hsp90 $\alpha$  vers l'extérieur des cellules endothéliales aortiques [ 147].

Dans des conditions de glucose élevé, la phosphorylation de Hsp90 $\alpha$  a été augmentée d'une manière dépendante de l'AMPc/protéine kinase A, qui était responsable de la translocation membranaire de Hsp90 $\alpha$  et de l'activité réduite de l'oxyde nitrique synthase endothéliale (eNOS) [147]. eNOS est responsable de la production de la majeure partie du NO vasculaire, dont la déficience peut favoriser l'athérogenèse [147].

Un soutien supplémentaire pour un rôle de Hsp90 $\alpha$  dans l'athérosclérose et le diabète est venu de la découverte que les niveaux de eHsp90 $\alpha$  étaient régulés à la hausse chez les patients atteints d'une maladie vasculaire diabétique aggravée [147].

eHsp90 recrute des monocytes via l'activation de LRP1, ce qui indique un lien entre Hsp90 $\alpha$  et les dommages inflammatoires dans les complications vasculaires du diabète.

Ces observations suggèrent que l'inhibition de Hsp90 $\alpha$  peut être utile dans le traitement des patients atteints de diabète de type 2.

En revanche, la connexion de Hsp90 avec eNOS s'est avérée protectrice contre les dommages causés par l'ischémie-reperfusion en réduisant le débit sanguin et le taux de filtration glomérulaire [147].

Lorsqu'il y a ischémie rénale, plus d'Hsp90 est bénéfique [147]. La transfection intra-rénale de plasmides d'expression pour l'une ou l'autre des isoformes de Hsp90 s'est avérée protectrice.

L'effet protecteur était associé à la restauration du couplage eNOS – Hsp90, au rétablissement des niveaux normaux de PKC $\alpha$  et à la réduction de l'expression de la Rho kinase.

Les événements de transfection ont pu ramener la phosphorylation d'eNOS à son état basal, rétablissant la production de NO et empêchant la réduction du débit sanguin rénal.

Hsp90 $\alpha$  est également un biomarqueur sérologique potentiel de rejet aigu après transplantation rénale [147].

Les taux sériques de Hsp90 $\alpha$  étaient significativement plus élevés chez les receveurs de rein lors du rejet.

Chez les souris recevant une greffe de peau, la Hsp90 $\alpha$  sérique s'est également avérée élevée lorsque la première greffe a été rejetée, et les niveaux ont encore augmenté lors d'un rejet plus sévère de la deuxième greffe.

Une Hsp90 $\alpha$  sérique élevée avait été trouvée dans la stéatohépatite non alcoolique.



L'Hsp90 $\alpha$  sérique était augmentée chez les patients atteints de stéatose hépatique associée au métabolisme (MAFLD).

Une corrélation positive a été trouvée entre l'âge, l'hémoglobine glycosylée, l'Hsp90 $\alpha$  sérique et le grade de la stéatohépatite [ 147 ].

Xie et ses collègues ont montré que dans un modèle de souris MAFLD, le traitement à la géranylgeranylacétone entraîne une diminution des taux de Hsp90 $\alpha$  suivi d'une amélioration de la stéatohépatite.

Dans la mesure où la MAFLD peut être la même que la NAFLD, pour laquelle Hsp90 $\beta$  avait été identifiée (voir ci-dessus), ici aussi, une classification minutieuse des patients MAFLD/NAFLD en ce qui concerne les paramètres cliniques et les niveaux de Hsp90 sera nécessaire avant toute analyse à base de Hsp90.

une thérapie peut être envisagée.

### **17- Différences entre Hsp90 dans les cellules normales et les cellules tumorales :**

Les trois principaux mécanismes de distinction qui diffèrent entre les cellules normales et tumorales sont l'induction de l'ARNm et des protéines HSP90, l'activation des protéines par l'association client ou des modifications post-traductionnelles, et la localisation de HSP90 dans les compartiments cellulaires ectopiques [90].

Ces différences font de HSP90 une protéine cible dans le traitement du cancer, bien qu'il s'agisse d'une protéine domestique courante abondamment présente dans les cellules normales.

### **18- Inhibiteurs HSP90 :**

Le rôle critique de HSP90 dans la progression du cancer et les différences entre HSP90 normal et HSP90 lié au cancer sont bien compris.

Ainsi, HSP90 est devenu une cible médicamenteuse.

. Montré dans Figure 5 sont des inhibiteurs de HSP90 ont fait l'objet de recherches approfondies en termes de domaines auxquels les inhibiteurs se lient et quels groupes d'inhibiteurs sont impliqués [ 90 ].

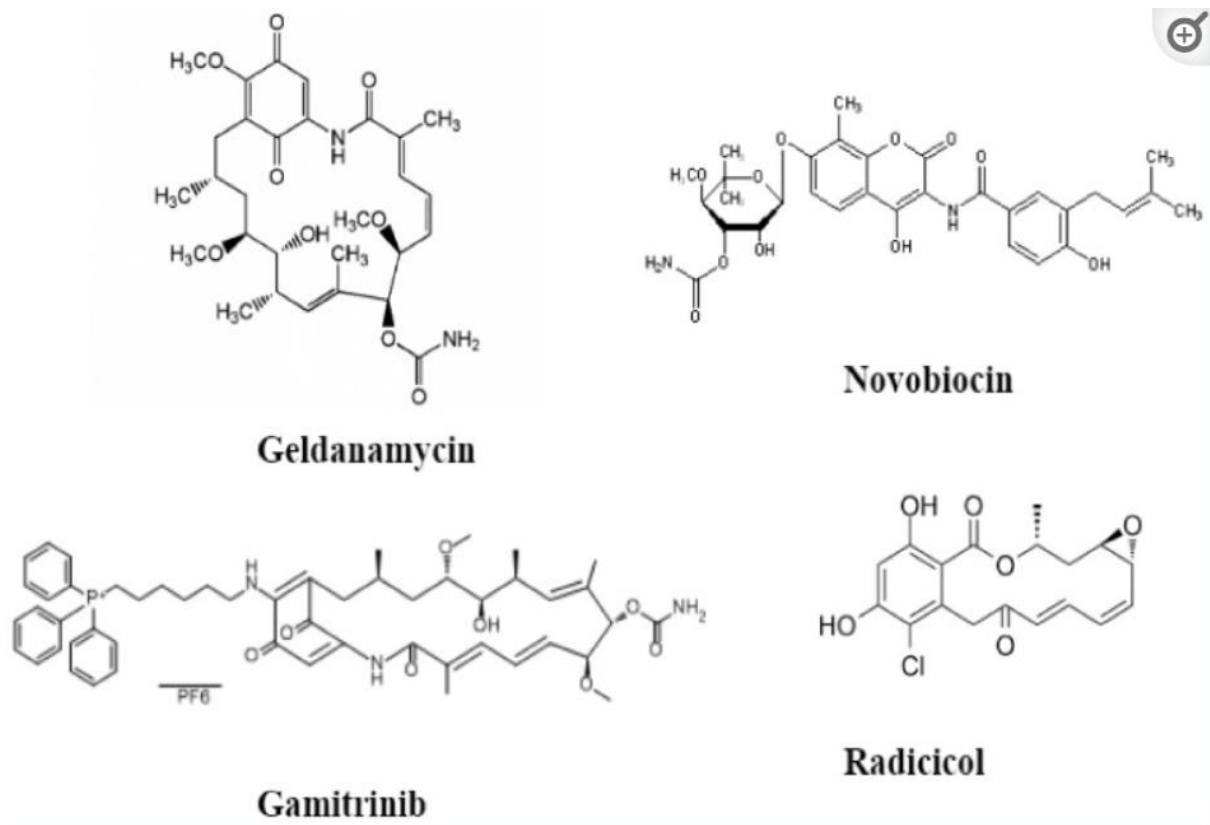


Figure 14 :Les structures chimiques de quatre principaux inhibiteurs naturels de HSP90. [90].

La geldanamycine (GA), le premier inhibiteur de HSP90 découvert, est un antibiotique naturel de la benzoquinone ansamycine [ 90 ].

Il se lie de manière compétitive, directement au site de liaison de l'ATP dans le domaine N de HSP90. Ce faisant, il empêche les nucléotides de se lier à HSP90, confinant HSP90 dans sa conformation liée à l'ADP au niveau du complexe intermédiaire du cycle chaperon [ 90 ].

Cela empêche le changement de conformation de HSP90, rendant HSP90 incapable de se serrer autour d'une protéine cliente [ 90 ].

La protéine cliente ne peut pas se lier à HSP90 et subit une ubiquitination et une dégradation protéasomique [ 90].

Bien qu'il ait montré des effets puissants contre les activités cancéreuses, l'hépatotoxicité élevée et la solubilité inadéquate de l'AG le rendent incapable d'être utilisé cliniquement comme candidat-médicament [ 90 ].

Les différents dérivés ayant les mêmes effets anticancéreux puissants mais avec de meilleures propriétés toxicologiques ont ainsi été synthétisés. Un exemple de dérivé de GA est le 17-AAG,

qui est plus hydrophile et a été utilisé avec succès dans des études précliniques et cliniques [ 90 ].

Radicicol (également connu sous le nom de monorden) est un autre produit naturel inhibiteur de HSP90.

C'est un macrolide à 14 chaînons, initialement isolé du champignon *Monosporium bonorden*. Comme GA, le radicol agit comme un composé imitant les nucléotides et entre en compétition pour la poche de liaison ATP N-terminale de HSP90.

Radicicol a une affinité beaucoup plus élevée pour cette poche que l'ATP [ 90].

Comme observé dans les interactions entre GA et HSP90, l'interaction avec le radicol retient HSP90 dans sa conformation liée à l'ADP, entraînant la déstabilisation des protéines clientes [ 90 ].

Radicicol a montré de puissants effets anti-prolifération *in vitro* ; cependant, il n'a pas montré d'activité anticancéreuse *in vivo*, ce qui peut être dû à sa faible stabilité biologique [ 90 ]. Suite à cette découverte, des dérivés de radicol avec une meilleure stabilité biologique et efficacité *in vivo* ont été synthétisés [90 ].

De nombreux nouveaux inhibiteurs ont été découverts et de nombreux dérivés de la geldanamycine et du radicol ont été synthétisés [ 90 ].

Un exemple est le radamide, qui a été conçu sur la base des structures de co-cristallisation du domaine N GA/HSP90 et du domaine N radicol/HSP90 [ 90 ].

Ce composé chimérique contient des aspects à la fois du radicol et de la geldanamycine. Plus précisément, il possède le cycle résorcinol du radicol et le cycle quinine de la geldanamycine [ 90].

Dans les cellules cancéreuses du sein, le radanamycinamide a montré de puissants effets inhibiteurs de HSP90 dans une faible gamme micromolaire [ 90].

Un autre inhibiteur est PU3. Il est à base de purine et ressemble structurellement à l'ATP, ce qui lui permet de se lier au domaine N-terminal de HSP90 et d'inhiber la croissance des cellules cancéreuses du sein [ 90 ].

Un autre inhibiteur de HSP90 est la novobiocine. C'est un antibiotique coumarinique isolé des espèces de *Streptomyces* [ 90 ].

Contrairement à GA et radicicol, qui ciblent le domaine N-terminal, cet inhibiteur cible le domaine C-terminal de HSP90 et se lie au site de liaison ATP C-terminal [ 90 ].

Cependant, similaire à l'inhibition de HSP90 par les inhibiteurs N-terminaux, l'inhibition de HSP90 par la novobiocine a entraîné la déstabilisation de diverses protéines clientes de HSP90 telles que Her-2, Raf-1 et le mutant p53 via la voie ubiquitine-protéasome [ 90].

Les domaines C-terminal et N-terminal de HSP90 peuvent être impliqués dans une régulation allostérique dans laquelle l'interaction du ligand avec un site peut être influencée par l'occupation du ligand de l'autre site [90] .

La clorobiocine et la coumermycine A1 sont des antibiotiques coumariniques apparentés qui se lient à l'extrémité C-terminale de HSP90. Par rapport à la novobiocine, ces antibiotiques ont montré une activité améliorée [ 90 ].

Comme discuté précédemment, la HSP90 mitochondriale, connue sous le nom de TRAP1, est également présente dans la cellule. Son rôle dans la tumorigenèse est dans la prévention de l'initiation de l'apoptose induite.

Le gamitrinib est un inhibiteur résorcinolique qui cible et agit spécifiquement sur la HSP90 mitochondriale. Son inhibition de la HSP90 mitochondriale induit une perte brutale du potentiel membranaire, provoquant la rupture de la membrane et l'initiation de l'apoptose.

Le gamitrinib est hautement sélectif et n'affecte pas les cellules normales [ 90 ].

À l'heure actuelle, il existe plus de dix inhibiteurs HSP90 différents qui sont à divers stades de développement clinique.

Cela inclut des inhibiteurs tels que IPI504, NVP-AUY922 et STA-9090 [ 90 ].

Jusqu'à présent, les résultats de ces développements cliniques semblent assurer des progrès dans le traitement du cancer, mais il reste encore de nombreuses questions sans réponse [ 90 ]

## **19- Facettes thérapeutiques de l'inhibition de HSP90 :**

Hsp90 est devenue une molécule importante dans la thérapie anti-tumorale, et plusieurs classes de médicaments . [147]

## CHAPITRE 1 : La protéine chaperonne Hsp90

Maladie	Inhibiteurs Hsp90	Mécanisme	Résultats
Cancer colorectal	Cétuximab	Voie de signalisation VEGF/VEGFR	Bloquer l'angiogenèse
	Panitumumab		
	Bévacizumab		
	Régorafénib		
	Ziv-aflibercept		
Cancer de la prostate	Ganétépide	Voie de signalisation PI3K/mTOR	Mort des cellules tumorales Inhibition de la croissance
Cancer de Brest	17 AAG (Déméthoxygeldanamycine) (tanespimycine)	P378/MEPK, voie EGFR	Inhibition de la croissance
Cancer du poumon	AUY922	Voie AR et PI3K/mTOR RAF/MEK/ERK	Activité antitumorale
	CS-6	Cibler la voie IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B	Inhibition de la croissance
Polyarthrite rhumatoïde, Maladie intestinale inflammatoire, Arthrose	Célastral	Voies de signalisation RAF/MEK/ERK et PI3K/AKT/mTOR	Effet anti-inflammatoire, induire l'apoptose
Cancer de la prostate, du côlon et de l'ovaire	Gedunin	Perturbateur de l'interaction Hsp 90-p23	Activité proliférative des fourmis
	Withaférine A	Hsp90-Cdc 37	Activité antitumorale
Cancer gynécologique, cancer gastro-intestinal, cancers de la thyroïde et autres cancers	Derrubone	Perturbateur de l'interaction Hsp 90-Cdc 37	Activité anticancéreuse
	Cruentaren A	Hsp90/F1F0 perturbateur de l'ATP synthase	Activité antitumorale. Hautement cytotoxique pour différentes lignées cellulaires

Tableau 3 : Liste des divers inhibiteurs de Hsp90 utilisés dans différentes maladies qui ont un impact sur des voies mécanistes distinctes.

### 20- Conclusion :

Il existe au moins 18 inhibiteurs de Hsp90 [ 145 ] actuellement en cours d'essais cliniques sur un large éventail de tumeurs et des études in vitro continuent d'identifier de nouveaux composés à petites molécules qui ciblent sélectivement le chaperon Hsp90 dans ses diverses formes paralogues [ 161 , 162].

De plus, les chances de résistance aux médicaments diminuent avec l'application de combinaisons médicamenteuses rationnelles, car l'inhibition de Hsp90 offre un large éventail de possibilités pour améliorer les effets anticancéreux des médicaments utilisés dans les thérapies combinées. Ainsi, ces progrès toujours croissants des médicaments inhibiteurs de Hsp90 et leur pertinence pour des maladies spécifiques sont très prometteurs pour d'autres développements passionnants à l'avenir.

## CHAPITRE 2 : Docking moléculaire

# **CHAPITRE 2 : Docking moléculaire**

### **Introduction :**

Dans le domaine de la modélisation moléculaire, l'amarrage (en anglais docking) est une méthode qui calcule l'orientation préférée d'une molécule vers une seconde lorsqu'elles sont liées pour former un complexe stable.

Connaître l'orientation préférée sert à prévoir la solidité de l'union entre deux molécules.

Les associations entre des molécules d'importance biologique, telles que les protéines, les acides nucléiques, les glucides et les matières grasses jouent un rôle essentiel dans la transduction de signal. D'ailleurs, l'orientation relative des deux molécules associées peuvent avoir un effet sur le genre de signal produit (ex. antagoniste ou agoniste).

Des études d'amarrage sont donc utiles pour calculer la force et le genre de signal produit.

Dans la mise au point de nouveaux médicaments, l'amarrage sert souvent à déterminer l'orientation de petites molécules liées à leurs protéines ciblées afin de calculer leurs affinité et niveau d'activité.

Ainsi, l'amarrage joue un rôle important dans la conception de nouveaux médicaments. En raison de sa valeur biologique et pharmaceutique, on s'est efforcé d'améliorer les méthodes qui calculent l'amarrage moléculaire

### **1-Définition**

Le docking est une méthode qui prédit l'orientation d'une molécule par rapport à une autre pour avoir le complexe le plus stable.

Il est fréquemment utilisé sur l'étude de la cible moléculaire des médicaments et réduire les essais expérimentaux.

## **2. Les outils du docking moléculaires :**

### **2.1. Le récepteur**

La première grande voie d'étude et de conception de molécules bioactives par modélisation moléculaire est celle qui se fonde sur la structure des récepteurs.

Cette approche est basée sur l'exploitation de la structure moléculaire tridimensionnelle de la protéine cible.



## CHAPITRE 2 : Docking moléculaire

Trois méthodes expérimentales permettent aujourd'hui de déterminer la structure des protéines : la résonance magnétique nucléaire (RMN), la microscopie électronique et la cristallographie par rayons X. Cette dernière technique est responsable de la majorité des structures issues d'une base de données de structures appelée la Protéine Data Bank (PDB).

La PDB est un répertoire mondial de dépôt d'informations sur la structure tridimensionnelle des protéines et des acides nucléiques.

Ces molécules proviennent de l'ensemble des règnes biologiques.

La PDB est gratuitement accessible par Internet (<http://www.rcsb.org/pdb/>).

Elle contient plusieurs de milliers de structures protéiques obtenues soit par cristallographie aux rayons X, soit par RMN [148].

Si la cible n'est pas encore déposée au niveau de la banque, et cette dernière contient une protéine avec des séquences similaires, la modélisation par homologie intervient afin de construire la structure 3D de la cible souhaitée [149].

### 2.2 Le ligand :

En docking moléculaire, le choix du ligand est une étape très importante. Ce choix doit être pertinent en raison de la spécificité du site actif de la cible évitant de tester inutilement des molécules.

Pour un docking moléculaire, le ligand doit être également sous forme 3D. A présent, il existe deux moyens pour obtenir la structure chimique d'un ligand donné : La première souvent d'aspect commercial, est constituée de bases de données de structures chimiques appelés chimiothèques ou espaces chimique .

Le second moyen consiste à utiliser des ligands de la PDB ou de la littérature qu'on peut dessiner, optimiser et enregistrer dans différents formats (pdb, mol, mol2...etc.) grâce à des logiciels de construction moléculaire tels que chemDraw, Arguslab, Titan ou Sybyl...etc.

### 3. Principe de docking :

Le docking moléculaire se déroule en deux étapes principales :

La première consiste à rechercher et générer toutes les conformations possibles et donc générant les modes d'interaction possibles entre la protéine et le ligand.

## CHAPITRE 2 : Docking moléculaire

Cette étape doit parcourir au mieux l'espace conformation pour trouver l'énergie minimale globale.

La deuxième est une donnée numérique dite fonction de score capable de déterminer la conformation qui représentera le mode d'interaction le plus juste pour chaque ligand par rapport à son récepteur.

En calculant rapidement l'énergie libre totale du complexe protéine-ligand formé : c'est l'étape de marquage de score [151].

### **4- Du docking rigide vers l'introduction de la flexibilité :**

L'étude du docking est une étape capitale dans la compréhension des réactions biologiques et dans la conception de médicaments.

Les tentatives de docking ont longtemps été basées sur le concept « clé-serrure », considérant le récepteur et le ligand rigides.

C'est sans aucun doute la catégorie la plus simple et rapide du docking moléculaire.

L'approche la plus utilisée dans le traitement de la flexibilité, considère la cible protéique comme corps rigide tandis que le ligand est flexible.

Ce type de docking (semi-flexible) permet d'obtenir des résultats plus précis. Aujourd'hui, la puissance de calculs des ordinateurs permet, pour certains logiciels de docking, de traiter la flexibilité du ligand et de façon partielle le récepteur.

### **5. Les Programmes du docking :**

Le tableau suivant représente quelques exemples des programmes de docking.

Tableau 4 : les Principaux programmes de docking moléculaire [153]

## CHAPITRE 2 : Docking moléculaire

Nom	Editeur	Sites internet
<b>AutoDock</b>	Scripps	<a href="http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/">http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock/</a>
<b>Dock</b>	UCSF	<a href="http://dock.compbio.ucsf.edu/">http://dock.compbio.ucsf.edu/</a>
<b>FlexX</b>	BioSolveIT	<a href="http://www.biosolveit.de/FlexX/">http://www.biosolveit.de/FlexX/</a>
<b>Fred</b>	OpenEyes	<a href="http://www.eyesopen.com/products/application/fred.html">http://www.eyesopen.com/products/application/fred.html</a>
<b>Glide</b>	Schrodinger	<a href="http://www.schrodinger.com/products/glide.html">http://www.schrodinger.com/products/glide.html</a>
<b>Gold</b>	CCDC	<a href="http://ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/">http://ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/</a>
<b>ICM</b>	Molsoft	<a href="http://www.molsoft.com/products.html">http://www.molsoft.com/products.html</a>
<b>LigandFit</b>	Accelrys	<a href="http://www.accelrys.com/ceius2/c2ligandfit.html">http://www.accelrys.com/ceius2/c2ligandfit.html</a>
<b>Surflex</b>	Biopharmics	<a href="http://www.biopharmics.com/products.html">http://www.biopharmics.com/products.html</a>

### 6. Le programme de docking moléculaire Surflex

Parmi les programmes de Docking moléculaire, nous avons utilisé le programme Surflex pour réaliser le travail de recherche.

Ce programme repose sur l'ajustement de fragments en commençant par construire un modèle « en négatif » du site actif dit protomol.

Ce modèle est constitué par le volume accessible du site et les points d'interaction tels que les sites de liaison hydrogène, les charges ou les sites lipophiles. Son algorithme est appelé également de fragmentation incrémentale car, dans un premier temps, la molécule est découpée en parties rigides et en liaisons flexibles. Par la suite, les parties rigides sont positionnées en premier et le ligand est reconstruit de proche en proche, explorant diverses conformations lors de la mise en place des liaisons flexibles ce qui permet un criblage rapide de vastes bibliothèques de composés [154]

# **PARTIE PRATIQUE**

**CHAPITRE 3 : MATERIELS ET  
METHODES.**

### 1. Matériel :

#### 1.1. Micro-ordinateur :

Dans notre étude, nous avons utilisé un micro-ordinateur présentant les performances suivantes :

Un PC hp avec 4 GO de RAM et un processeur Intel(R) Core(TM) i3-4000M CPU @ 2.40GHz  
2.40 GHz

La réalisation des calculs de docking moléculaire a nécessité l'utilisation d'un ensemble de programmes informatiques installés sous un système d'exploitation Windows 10 .

Ainsi que la consultation de plusieurs sites internet et certaines bases et banques de données.

#### 1.2. Programmes

Plusieurs programmes ont été utilisés pour réaliser la partie pratique :

□ **Surflex (1.3)** : est un algorithme de docking rapide capable d'arrimer les ligands dans un environnement constitué d'acides aminés avec une bonne précision.

□ **Open Babel (2.4.1)** : est un programme libre, visant à faciliter l'inter conversion des données chimiques d'un format à un autre.

Les formats de fichier que le programme Open Babel prend en charge comprennent : PDB, MOL, MOL2, SDF, XYZ, PC, SMI...etc [155].

□ **Biovia Discovery studio visualizer** : nous a permis de préparer et visualiser aussi bien l'enzyme que les ligands afin d'étudier les interactions mises en jeu entre la protéine et le ligand.

□ **Excel 2013** : permet de tracer le diagramme du test de fiabilité RMSD de Surflex

□ **Visual Molecular Dynamics (VMD)** : est un programme informatique de modélisation et de visualisation moléculaire [156].

Les utilisateurs peuvent exécuter leurs propres scripts Tcl et Python dans VMD car il inclut des interpréteurs Tcl et Python intégrés. [157]

#### 1.3. Sites internet :

□ **Protein Data Bank (PDB)** : La PDB est la principale source de données de biologie structurale et permet en particulier d'accéder à des structures 3D de protéines d'intérêt pharmaceutique.

Ces structures sont principalement déterminées par les deux méthodes ; la cristallographie à rayons X et la RMN [156] ; <https://www.rcsb.org/> .

## CHAPITRE 3 : MATERIELS ET METHODES.

□ **PubChem** : C'est une banque de données américaine de molécules chimiques gérée par le National Center for Biotechnology Information (NCBI), branche de la Bibliothèque nationale de médecine des États-Unis sous l'autorité de la National Institute of Health (NIH).

La PubChem englobe plusieurs millions de composés mis en ligne, gratuitement, pour chaque Substance une grande quantité de données de divers ordres chimique, biochimique, Pharmacologique, production, toxicologie [160] ; <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> .

□ **SwissADME**

Permet de calculer les propriétés physico-chimiques ainsi que de prédire les paramètres ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion), les propriétés pharmacocinétiques, la nature médicamenteuse et la convivialité de la chimie médicinale d'une ou plusieurs petites molécules pour soutenir la découverte de médicaments ; <http://www.swissadme.ch/> . [172]

## II. Méthodes :

### 1. Docking moléculaire (D.M) :

Le docking moléculaire vise à prédire la structure d'un complexe moléculaire à partir des molécules extraites, dans lesquelles différentes approches sont combinées pour étudier les modes d'interaction entre deux molécules.

Les logiciels de docking sont donc des outils très utiles en biologie, pharmacie et médecine, car la plupart des principes actifs sont de petites molécules (ligand) qui interagissent avec une cible biologique d'intérêt thérapeutique.

Le récepteur macromoléculaire étant le plus souvent une protéine, le terme docking seul est couramment employé pour désigner un « docking protéine-ligand » [165]

### 2. Tests d'évaluation de la fiabilité du docking

Il est nécessaire d'étudier la fiabilité des logiciels d'ancrage moléculaire afin de valoriser les résultats fournis le long de notre travail.

On a utilisé le test RMSD (Root-Mean-Square Deviation) pour vérifier la fiabilité du logiciel utilisé Surflex. La fiabilité d'un programme de docking est évaluée en termes de capacité à reproduire des complexes protéine-ligand déterminés expérimentalement. La valeur de déviation quadratique moyenne ou RMSD entre la conformation et l'orientation du ligand déterminée par le programme de docking et sa pose dans le complexe expérimental doit être la

plus petite possible. Le ratio admis est une différence maximale de 2 angströms (Vieth et al, 1998 ; Grosdidier, 2007).

Plus la valeur de déviation quadratique moyenne se rapproche de 0, plus la conformation prédite par le logiciel se superpose avec celle de référence.

La norme actuelle pour évaluer la performance d'un logiciel de docking est de faire ce test sur environ une centaine de complexes protéine-ligand cristallisés (Kramer et al, 1999 ; Kellenberger, 2004).

Dans notre travail, le test RMSD a été réalisé sur 100 complexes tirés de la PDB. [166]

### **3. Préparation des molécules pour le docking moléculaire**

#### **3.1. Préparation de l'enzyme (récepteur) :**

La structure 3D de la protéine Hsp90 alpha, faisant l'objet de notre étude, a été téléchargée sous format pdb à partir de la PDB sous le code 2YKE où elle existe sous forme de complexe lié à un inhibiteur, défini avec une résolution de 1.43 Å .

Les molécules d'eau et l'inhibiteur liés au récepteur ont été éliminés par VMD pour ne conserver que la structure de l'enzyme qui a été ensuite enregistrée sous format pdb, puis convertie au format mol2 par le programme Open Babel que reconnaît Surfex

#### **3.2. Préparation des ligands**

- La séparation du ligand (YKE) du complexe 2YKE a été réalisée par VMD en éliminant tous les composants : protéine, molécules d'eau, métaux etc...
- Le ligand (YKE) ainsi obtenu a été enregistré au format pdb.
- Conversion du ligand de référence (YKE) au format. mol2 que reconnaît Surfex grâce à OpenBabel 2.4.1.
- Tous les autres ligands étudiés dans ce travail ont également été convertis au format .mol2.

#### **3.3. Les étapes du docking**

Le docking moléculaire avec le logiciel Surfex a été réalisé selon le protocole suivant [167]

##### **1ère étape : génération du protomol**

Cette étape correspond à l'identification du site actif par la construction d'une pseudo-molécule appelée « protomol » réalisée grâce à la commande suivante :

**Surfex-dock proto ligand.mol2 protein.mol2 pl**



### **2 ème étape : le docking moléculaire**

Cette étape est réalisée en présence de la protéine du protomol et du ligand, tous utilisés sous le format .mol2.

Le docking moléculaire avec Surflex permet de générer les dix (10) meilleures positions ou conformations du ligand étudié au sein du site actif de l'enzyme, classées par ordre décroissant de leur score d'affinité (Final-0, Final-1.....Final-9).

Pour ce faire, nous avons utilisé la commande suivante :

**surflex-dock dock ligand.mol2 pl-protomol.mol2 protein.mol2**

### **3 ème étape : calcul du RMSD**

Le RMSD considéré est celui des atomes lourds ; Cette étape a été réalisée en utilisant la commande suivante :

**Surflex-dock rms final-0.mol2 ligand.mol2**

### **4 ème étape: optimisation du RMSD**

Il s'agit d'une étape supplémentaire qui permet d'optimiser la valeur du RMSD lorsque celle-ci est supérieure à 2 Å en utilisant la commande suivante :

**surflex-dock oprms final-0.mol2 ligand.mol2**

## **4. Recherche de nouveaux inhibiteurs théoriques de la 2YKE**

En utilisant le ligand de référence comme structure de départ, la banque de donnée PubChem nous a fournit 178 composés présentant un taux de similarité de 91 % par rapport à notre ligand de référence YKE. Après leur téléchargement au format .sdf que reconnaît Surflex, ces similaires ont subi un criblage virtuel en présence du site actif de notre enzyme Hsp90 dans le but de prédire leur affinité à l'égard de celle-ci.

## **5. Filtrage ADME :**

Chaque médicament éventuel doit de se conformer à plusieurs critères de base, tels son faible coût de production, être soluble, stable, brevetable, mais doit aussi se conformer à des barèmes associés à ses propriétés pharmacologiques d'absorption, de distribution, de métabolisme, d'excrétion et de toxicité [168].

En 1997 Lipinski et *al* ont proposé « la règle de 5 » également appelée « règle de LIPINSKI » permettant de déterminer si un composé chimique dispose des caractéristiques physicochimiques nécessaires à sa qualification en tant que candidat-médicament. Selon cette

## CHAPITRE 3 : MATERIELS ET METHODES.

règle, un composé possède toutes les chances d'être biodisponible oralement s'il respecte au moins 3 des 5 critères suivants :

1. Possède une masse moléculaire inférieure à 500 daltons.
2. Un coefficient de partition (log P) ou une lipophilie entre -2 et 5. Le log P est égal au logarithme du rapport des concentrations de la substance étudiée dans l'octanol et dans l'eau.  $\log P = \log (C_{oct}/C_{eau})$ . Cette valeur permet d'appréhender le caractère hydrophile ou hydrophobe (lipophile) d'une molécule.
3. Ne possède pas plus de 5 donneurs de liaisons hydrogène (OH et NH).
4. Ne possède pas plus de 10 accepteurs de liaisons hydrogène (O et N).
5. Le nombre de liaisons rotatives (flexibles et linéaires) inférieur à 15. [169]

Des compléments à cette règle ont été apportés, notamment par Veber [170] :

- Le nombre de liaisons à libre rotation (FRB)  $\leq 10$
- La surface polaire de la molécule (PSA)  $\leq 140 \text{ \AA}$

### 6. Analyse visuelle

C'est une étape à double objectif ; d'une part elle permet de vérifier les résultats du RMSD par une simple superposition de la molécule générée par docking moléculaire avec la molécule expérimentale de la PDB.

D'autre part, elle permet d'identifier et de dénombrer les différentes interactions mises en jeu entre le ligand et le site actif de l'enzyme étudiée.

## **CHAPITRE 4 : Résultats et Discussion**

# **CHAPITRE 4 : Résultats et Discussion**

## CHAPITRE 4 : Résultats et Discussion

### 1. Test de fiabilité du programme Surflex

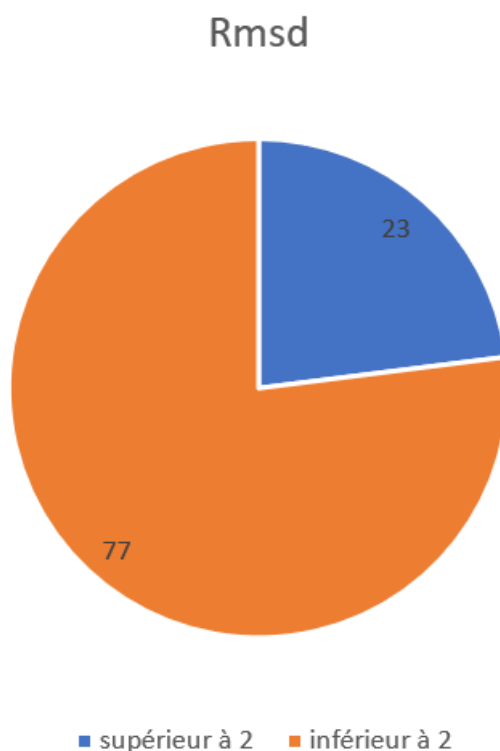
Avant d'aborder l'étude de l'inhibition de la 2YKE par diverses molécules, nous avons tenté d'évaluer la fiabilité du programme Surflex utilisé. Souvent, les performances d'un programme de Docking moléculaire sont évaluées en termes de capacité à reproduire le mieux possible des complexes expérimentaux. La fiabilité du logiciel peut être jugée au moyen du RMSD suivi d'une analyse visuelle des complexes formés

#### 1.1. RMSD :

Le test est approuvable si et seulement si la valeur du RMSD est inférieure ou égale à 2 Å. Dans notre travail, l'évaluation de la fiabilité du programme par le RMSD a été effectuée sur 100 complexes protéine-ligand que nous avons téléchargés de la PDB et dont les résultats sont regroupés dans l'annexe 1

Parmi les 100 complexes étudiés, 77 complexes ont présenté une valeur de  $\text{RMSD} \leq 2 \text{ \AA}$  correspondant à un taux de 77% alors que seulement 23 % des résultats sont supérieurs à 2 Å (Figure 22). Ces résultats sont corroborés par les travaux de Chikhi. A. et Bensegueni. A., 2008 et Teniou. S., 2012 qui révèlent respectivement 63% et 85,8% des résultats  $\text{RMSD} \leq 2 \text{ \AA}$ .

Avec de tels résultats, nous pouvons conclure que le programme Surflex est un outil de docking moléculaire de haute performance.



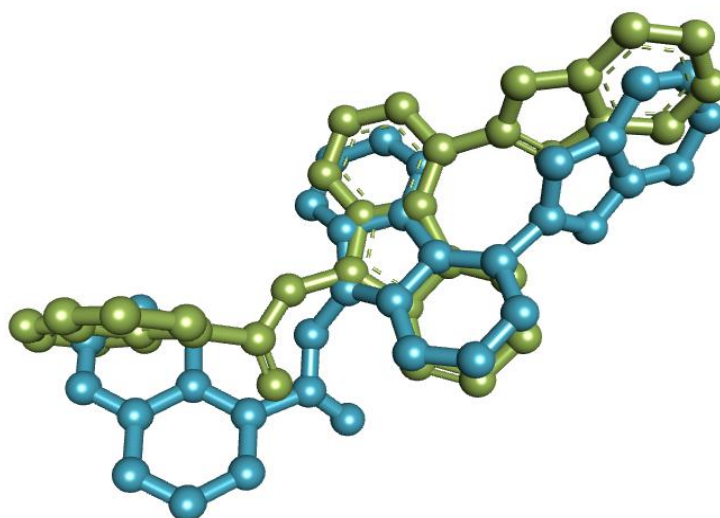
## CHAPITRE 4 : Résultats et Discussion

**Figure 15** : représentation graphique des pourcentages de RMSD obtenus par Surflex sur 100 complexes protéine-ligand.

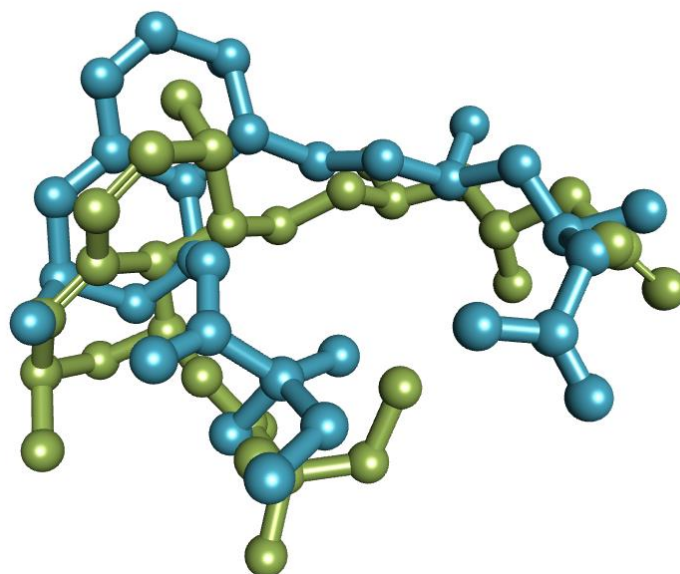
### 1.2. L'analyse visuelle

Afin de valider le test RMSD, il est nécessaire de constater de visu si la superposition entre le ligand calculé par docking et le ligand expérimental est correcte.

A ce titre, nous avons réalisé l'analyse visuelle avec 3 inhibiteurs dont le premier a un RMSD inférieur à 2 Å (Figure 16) ; le deuxième a une valeur proche de 2 Å (Figure 17) et le troisième est nettement supérieur à 2 Å (Figure 18).

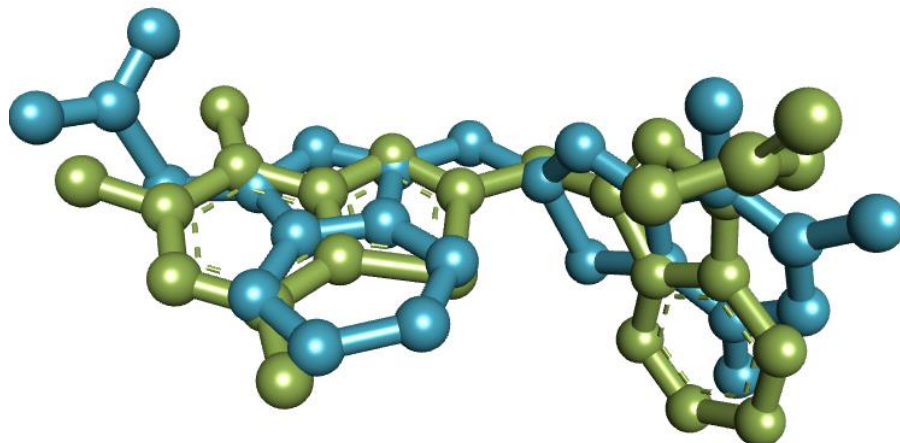


**Figure 16** : Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en vert) et du finale-0 calculé par Surflex (coloré en bleu) du complexe 2YKE (RMSD = 1.582 Å).



## CHAPITRE 4 : Résultats et Discussion

**Figure 17 : Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en vert) et du finale-0 calculé par Surflex (coloré en bleu) du complexe 1hw9 (RMSD = 1.756Å).**



**Figure 18 : Superposition du ligand donné par rayon-X (coloré en vert) et du finale-0 calculé par Surflex (coloré en bleu) du complexe 1Z3N (RMSD = 3.849Å).**

Dans les deux premiers cas où le RMSD est inférieur à 2 Å, la superposition des conformations optimales des ligands générées par docking avec la géométrie des mêmes ligands obtenues par diffraction des rayons-X est maximale. Dans le cas du troisième complexe, avec un RMSD de 3.849Å il n'y a aucune superposition puisque le ligand expérimental et le ligand calculé sont diamétralement opposés

### 2. Etude et recherche de nouveaux inhibiteurs de la 2YKE

La plupart des laboratoires pharmaceutiques implique une stratégie pour optimiser et découvrir de nouveaux médicaments plus efficaces à dose minimale dévoilant une moindre toxicité.

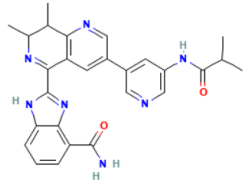
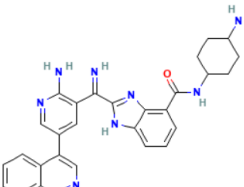
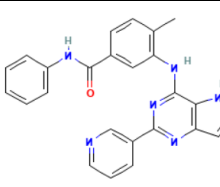
C'est dans ce même contexte que nous avons tenté dans ce travail de rechercher de nouveaux inhibiteurs de la protéine Hsp90 présentant une meilleure affinité que le ligand de référence YKE dont l'affinité est de 2,49. Pour ce faire nous avons utilisé la banque de données PubChem afin de nous fournir les composés similaires au ligand de référence YKE en vue de calculer leur affinité pour l'enzyme avec Surflex.

#### 2.1. Le criblage virtuel des similaires

## CHAPITRE 4 : Résultats et Discussion

Avec une homologie structurale de 91 % à notre ligand de référence, la chimiothèque PubChem nous a fournis 178 similaires dont la modélisation de leurs interactions avec le site actif de la protéine Hsp90 par docking moléculaire avec Surflex a permis d'évaluer leur affinité à l'égard de ce dernier (annexe 2). Parmi les 178 similaires, il ressort que 136 composés présentent une affinité nettement supérieure à celle de notre ligand de référence YKE estimée à  $2.49 \text{ M}^{-1}$  (annexe3). Pour des raisons pratiques, nous nous sommes limités à l'étude des 3 meilleurs similaires dont le score d'affinité, la structure et le code CID sont reportés dans le tableau 5 suivant :

Tableau 5 : Les 3 meilleurs similaires, leurs affinités et leurs structures :

N°	InChI Key du composé	N° CID	Affinité (M-1)	La structure
S56	GASLTIJPGGKHHC-UHFFFAOYSA-N	123445555	6,72	
S28	ACGDBJIZAQTZEL-UHFFFAOYSA-N	143359591	6,28	
S20	KHOTXKFOLGXRJP-UHFFFAOYSA-N	146621809	6,03	

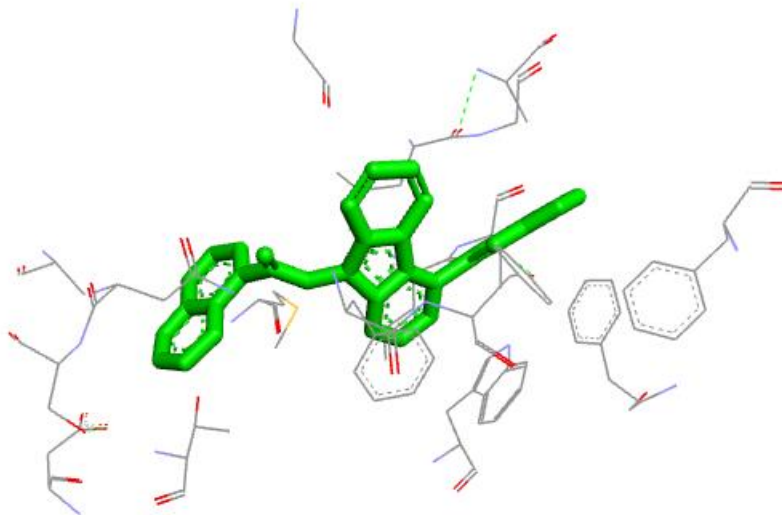
### 2.2. L'analyse visuelle et discussion des interactions :

Le docking moléculaire de ces 3 composés dans le site actif de la protéine Hsp90 donne plusieurs informations intéressantes concernant les interactions formées par ces derniers. Nous avons fait appel à l'interface graphique " Show 2D" du programme Biovia Discovery Studio pour visualiser et analyser le nombre, le type et la qualité des liaisons des complexes formés par ces 3 similaires avec Hsp90

## CHAPITRE 4 : Résultats et Discussion

Parmi les liaisons faibles impliquées dans la formation de ces complexes, les liaisons hydrogène sont, du point de vue énergétique, les plus importantes en raison de leur force qui bascule entre celle de la liaison covalente et celle des forces de Van Der Waals. [171]

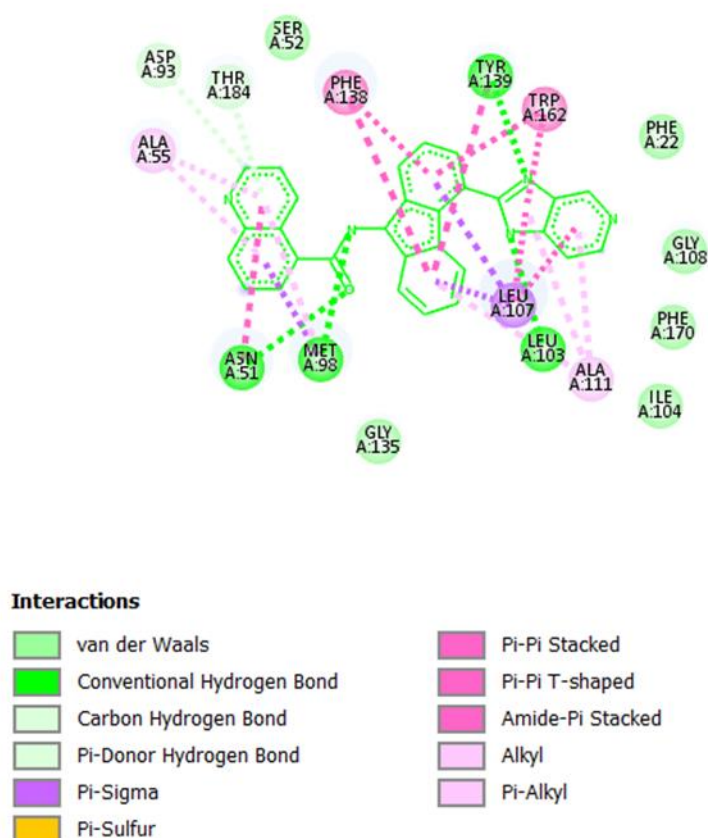
Afin de mieux appréhender les mécanismes d'interaction de ces 3 similaires avec le site actif de la protéine Hsp90, il nous a semblé judicieux de connaître d'abord en premier lieu le mode d'interaction du ligand de référence YKE (figures 19 et 20)



**Figure 19 : représentation en 3D du mode d'interaction de l'inhibiteur YKE avec le site actif de la Hsp90**



## CHAPITRE 4 : Résultats et Discussion



**Figure 20 : représentation 2D du mode d'interaction de l'inhibiteur YKE avec le site actif de la Hsp90**

La figure 20 montre que l'inhibiteur de référence YKE forme 23 liaisons de nature différente qui sont :

- 04 liaisons H avec Asn 51(d=3.36), Met98(d=3.77), Tyr139 d=2.70) et Leu103(d=2.72)
- 02 liaisons carbone-hydrogène avec Asp93 (d=2.95) et Thr184 (d=4.17)
- 09 liaisons pi-alkyl avec Ala55 (d1 =4.2 ; d2 = 4.75) ; Leu107 (d1 =3.85 ; d2 =3.98) ; Met98 (d1=3.78 ; d2 =5.31) ; Ala111 (d1 =4.72 ; d2 4.04) et Val150 (d =5.27)
- 04 liaisons pi-pi-stacking avec Phe138 (d1=4.41 ; d2= 5.48), Trp162 (d=6.21), Tyr139 (d=5.59)
- 02 liaisons pi-sigma avec Leu107( d=4.15) et Asn51(d=4.30),
- 02 liaisons de van der Walls avec Ser52 et Gly108

Le mode d'interaction du similaire S56 est respectivement représenté en 3D et 2D dans les figures 21 et 22 suivantes :

## CHAPITRE 4 : Résultats et Discussion

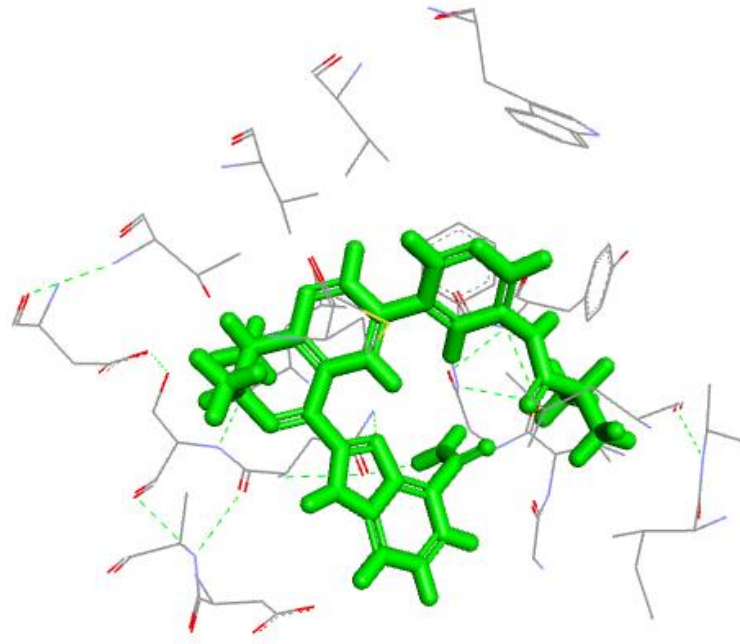
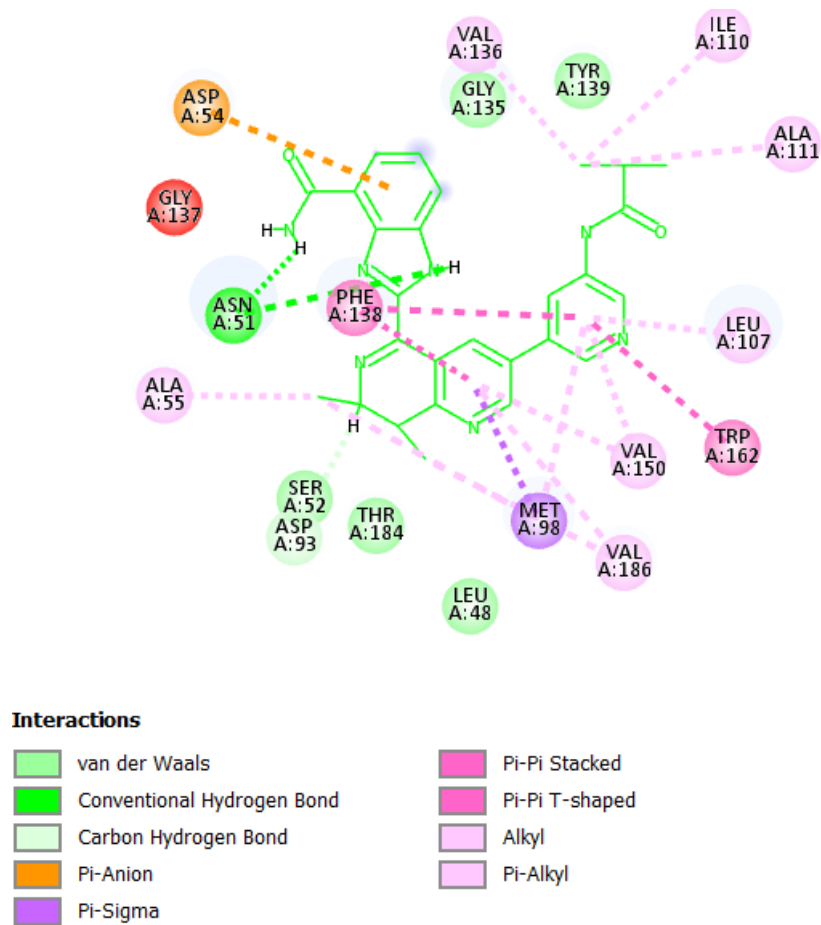


Figure 21 : mode d'interaction du similaire S56 avec le site actif de la Hsp90 en 3D



## CHAPITRE 4 : Résultats et Discussion

### Figure 22 : représentation en 2D des interactions de S56 avec le site actif de Hsp90

La figure 23 montre que le similaire S56 forme 19 liaisons de 7 types qui sont :

- 02 liaisons hydrogène avec Asn 51 ( $d_1=1.93$  ;  $d_2=2.96$ )
- 01 liaison carbone-hydrogène-avec Asp93 ( $d=2.35$ )
- 01 liaison électrostatique pi-anion avec Asp54 ( $d=4.77$ )
- 02 liaison pi-sigma avec Met98 ( $d_1=3.60$  ;  $d_2=5.44$ )
- 03 liaisons pi-pi-stacking avec Phe138 ( $d_1=3.40$  ;  $d_2=5.15$ ) et Trp162 ( $d=4.62$ )
- 04 liaisons pi-alkyl avec Val150 ( $d_1=4.88$  ;  $d_2=5.21$ ) ; Leu107 ( $d=5.13$ ) et Val186 ( $d=5.12$ )
- 06 liaisons alkyl avec Val136 ( $d=4.84$ ), Ile110 ( $d=4.56$ ), Ala111 ( $d=3.73$ ), Ala55 ( $d=3.39$ ) ; Met98  $d=5.45$ ) ; Val186 ( $d=5.11$ )
- 02 liaisons défavorables donneur-accepteur collision avec Gly137 ( $d=2.66$ ) et Phe 138 ( $d=2.08$ )

Dans le cas du similaire S28, les interactions sont représentées dans les figures 23 et 24 suivantes

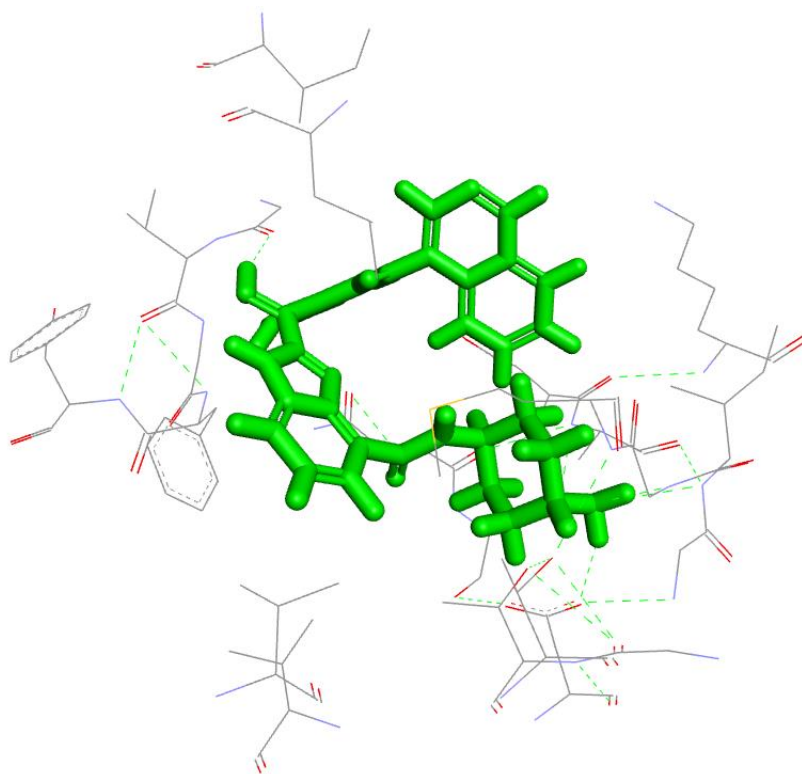
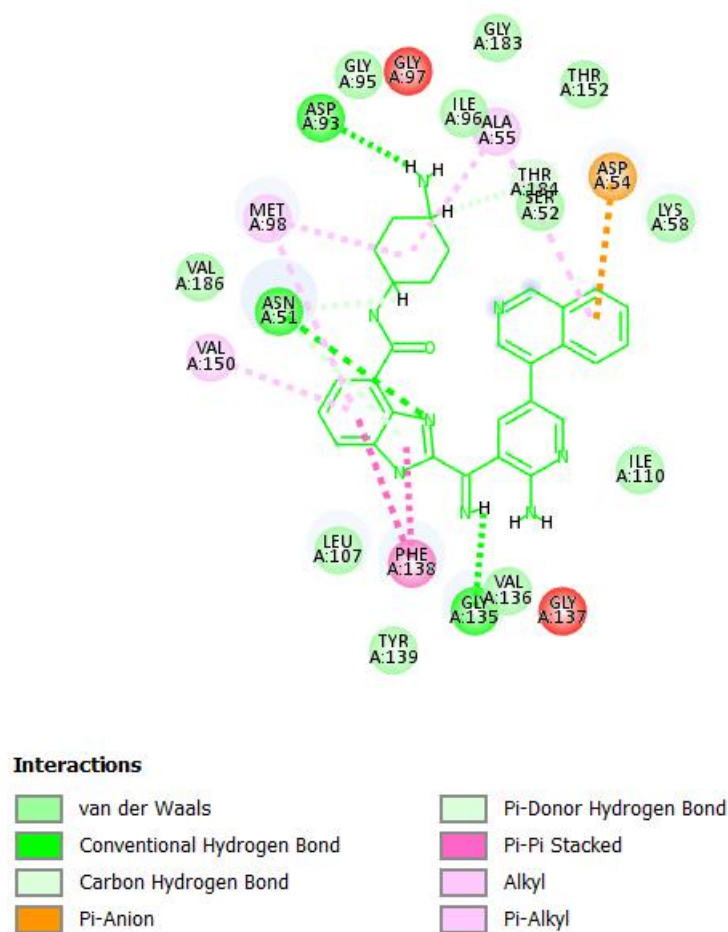


Figure 23 : mode d'interaction du similaire S28 avec le site actif de la Hsp90.

## CHAPITRE 4 : Résultats et Discussion



**Figure 24 : représentation en 2D des interactions de S28 avec le site actif de Hsp90**

Le composé S28 forme 15 liaisons de nature différente :

- 03 liaisons hydrogène avec Asp93 (d=2.18) ; Asn51(d=3.37) et Gly135(d=1.88)
- 01 liaison carbone-hydrogène (d=1.76)
- 01 liaison électrostatique pi-anion avec Asp54 (d=4.65)
- 01 liaison hydrogène pi-donneur avec Thr184
- 02 liaison pi-pi stacking avec Phe138 (d1=3.75 ; d2=4.04)
- 03 interactions pi-alkyl avec Ala55 (d=5.39) ; Met98 (d=5.05) et Val150 (d=5.02)
- 02 liaisons alkyl avec Ala55 (d=3.08) et Met98 (d=4.96)
- 03 Liaisons défavorables accepteur- donneur avec Gly 137 (d=2.16), Gly97 (d=2.15) et Phe138 (d=2.18)

Enfin les interactions du similaire S20 sont représentées dans les figures 25 et 26 suivantes

## CHAPITRE 4 : Résultats et Discussion

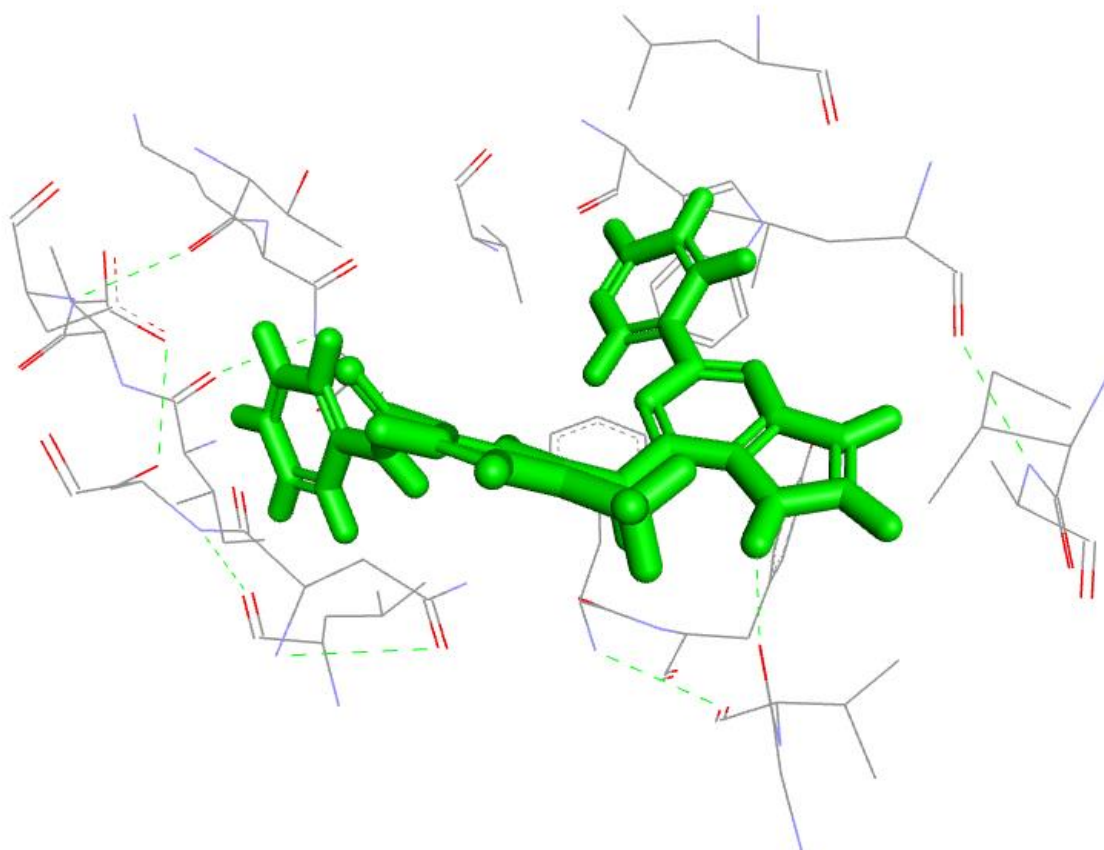


Figure 25 : mode d'interaction du similaire S20 avec le site actif de la Hsp90.

## CHAPITRE 4 : Résultats et Discussion

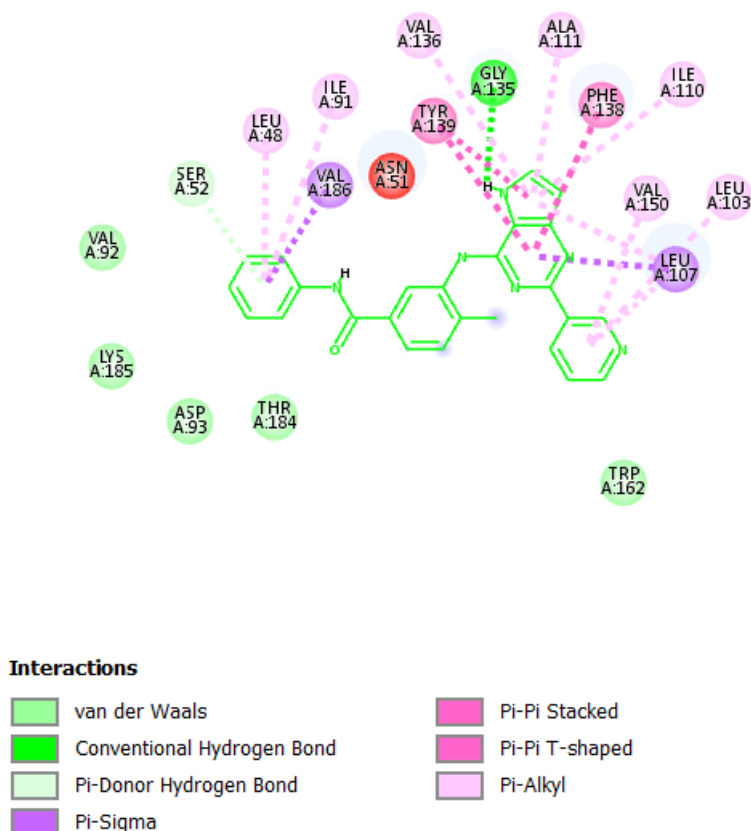


Figure 26 : représentation en 2D des interactions de S20 avec le site actif de Hsp90

Le composé S20 forme 20 liaisons de nature différente :

- 01 liaison hydrogène avec Gly135 (d=2.03)
- 01 liaison carbone-hydrogène avec Ser52 (d=3.34)
- 01 liaison pi- sulfure avec Met98 (d=4.39)
- 02 liaisons pi sigma avec Leu107 (d= 3.93) et Val186 (d=3.01)
- 03 liaisons pi-pi stacking avec Phe 138 (d=4.71) et Tyr139 (d1=5.63 ; d2=5.64)
- 10 liaison pi-alkyl avec Leu107 (d1=4.53 ; d2=5.28) ; Leu103 (d=6.42) Leu48 (d=5.07), Ile91 (d=5.14), Val136 (d=5.34), Ala111(d=4.49), Ile110 (d=5.36), Val 150(d=4.41) et Val186 (d=3.01)
- 01 liaison hydrogène pi-donneur avec Ser52
- 01 liaison défavorable accepteur-donneur avec Asn51 (d=2.42)

### 3. Propriétés ADME

Les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques des 3 meilleurs similaires (S56, S28 et S20) ont été calculées par le serveur SwissADME en comparaison avec l'inhibiteur

## CHAPITRE 4 : Résultats et Discussion

de référence YKE. Dans un premier temps, ont été évaluées leurs propriétés physicochimiques (Tableau 6)

### 3.1- Propriétés physico-chimiques

Tableau N°6: propriétés physico-chimiques du ligand YKE et des 3 similaires S56, S28 et S20

Propriétés	YKE	S56	S28	S20
Formule	C <sub>29</sub> H <sub>19</sub> N <sub>5</sub> O	C <sub>27</sub> H <sub>27</sub> N <sub>7</sub> O <sub>2</sub>	C <sub>29</sub> H <sub>28</sub> N <sub>8</sub> O	C <sub>25</sub> H <sub>20</sub> N <sub>6</sub> O
PM (g/mole) Poids moléculaire	453.49	481.55	504.59	420.47
nLF nombre de liaisons flexibles	4	6	6	6
nON : nombre d'accepteur de H	4	6	6	4
nOHNH : nombre de donneurs de H	2	3	5	3
Log P	3.43	2.80	2.90	3.69
TPSA Å <sup>2</sup>	83.56 Å <sup>2</sup>	139.01 Å <sup>2</sup>	159.45 Å <sup>2</sup>	95.59 Å <sup>2</sup>
Règle de Lipinski	Yes; 0 violation	Yes; 0 violation	No; 1 violation: PM>500	Yes; 0 violation
Règle de Veber	Yes	Yes	No; 1violation: TPSA>140	Yes
Solubilité dans l'eau en mg/ml et mole/l	8.86e-08 ; 1.95e-10	1.12e-06 ; 2.33e-09	2.68e-07 ; 5.32e-10	3.66e-08 ; 8.71e-11
Accessibilité à la synthèse	4.57	4.73	4.40	3.36

Le tableau 9 : montre que les 2 composés S56 et S20 comme le ligand YKE répondent favorablement à la règle de Lipinski et Veber témoignant de leur possibilité d'être administrés par voie orale. Il en va autrement pour le composé S28 qui déroge aux règles de Lipinski et

## CHAPITRE 4 : Résultats et Discussion

Veber en présentant respectivement un PM supérieur à 500g/mole et une surface polaire supérieure à 140 Å<sup>2</sup>.

### 3.2- Propriétés pharmacocinétiques

Afin d'avoir une vision la plus exhaustive possible sur les propriétés ADME des 3 similaires S56, S28 et S20, il était nécessaire d'évaluer, dans un deuxième temps, leurs propriétés pharmacocinétiques (Tableau 7)

Tableau N° 7 : Propriétés pharmacocinétiques de YKE et de S56, S28 et S20

Propriétés	YKE	S56	S28	S20
GI absorption	élevée	faible	faible	élevée
BBB perméabilité	non	non	non	non
CYP1A2 inhibition	oui	non	non	oui
CYP2C19 inhibition	oui	non	oui	oui
CYP2C9 inhibition	oui	oui	non	oui
CYP2D6 inhibition	non	non	non	oui
CYP3A4 inhibition	non	oui	oui	oui

Les résultats montrent que, contrairement aux 2 similaires S56 et S28 dont l'absorption est faible, le composé S20 comme l'inhibiteur de référence YKE a une absorption gastro-intestinale élevée lui permettant de traverser facilement le tractus gastro-intestinal pour atteindre la circulation générale.

En revanche les 3 similaires S56, S28 et S20 comme le composé YKE ne franchissent pas la barrière hématoencéphalique et donc ne présentent aucun danger pour le système nerveux central.

Concernant l'inhibition du cytochrome P450, on constate que le similaire S20 inhibe les 5 CYPs étudiés qui sont indispensables pour le métabolisme des xénobiotiques au niveau du foie. En revanche les 2 similaires S56 et S28 n'inhibent chacun que 2 CYPs contre 3CYPs dans le cas du ligand YKE, ce qui les favorise en tant qu'inhibiteurs potentiels de l'enzyme Hsp90.



## CHAPITRE 4 : Résultats et Discussion

Il est utile de souligner que les problèmes de l'absorption gastro-intestinale et l'inhibition des CYPs que posent les 2 similaires S56 et S28 peuvent être facilement levés par optimisation de leur structure lors de la synthèse.

Conclusion

# Conclusion

## Conclusion

### Conclusion :

L'objectif primordial de notre travail est de développer *in silico* par le biais du docking moléculaire de nouvelles structures agissant comme inhibiteurs plus puissants de l'enzyme hsp90, cible enzymatique récente jouant un rôle curatif contre les tumeurs cancéreuses

Afin de vérifier que Surfex est un programme de docking moléculaire adapté à notre étude, nous avons tenté de tester la capacité de ce programme à prédire l'emplacement correct d'un ligand au niveau de son récepteur en faisant appel au test du RMSD (Root Mean Square Deviation) qui sert à évaluer la déviation de la géométrie du ligand simulée par Surfex par rapport à sa conformation de référence qu'on retrouve dans la PDB.

Sur les 100 complexes pris arbitrairement de la PDB, 77% ont présenté un RMSD inférieur à 2 Å témoignant de la fiabilité du programme Surfex. Pour confirmer ces résultats le test RMSD a été suivi par une analyse visuelle où l'on constate une bonne superposition de la conformation du ligand calculée par Surfex et celle du ligand de référence pris de la PDB dont la valeur du RMSD est inférieure à 2 Å. La superposition se révèle mauvaise pour des valeurs de RMSD supérieures à 2 Å.

Ces 2 tests apportent la preuve que le programme Surfex est hautement performant et peut être utilisé en toute confiance pour simuler les interactions entre l'enzyme Hsp90 et ses nouveaux inhibiteurs.

Dans ce contexte, 178 structures avec un taux de similarité de 91% à notre ligand de référence ont été téléchargées à partir de la chimiothèque « PubChem » afin d'évaluer leur affinité envers la protéine Hsp90. Le criblage virtuel de ces 178 similaires avec le logiciel Surfex nous a permis de sélectionner 136 composés avec des affinités supérieures à celle de notre ligand de référence YKE qui est de  $2.49 \text{ M}^{-1}$ .

Le recours à l'analyse visuelle nous a permis de mettre en exergue les différentes interactions engendrées par les 3 meilleurs similaires S56, S28 et S20 ayant inhibé l'enzyme Hsp90 avec des affinités respectives de  $6.72$ ,  $6.28$  et  $6.03 \text{ M}^{-1}$ . Parmi ces interactions, sont à citer les liaisons Hydrogènes, Van Der Waals, Pi-Anion, Pi-Sulfur, Pi-Pi stacking, Alkyl, Pi-Alkyl et Pi-Cation etc....

Concernant les propriétés ADME, l'analyse physico-chimique montre que les 2 similaires S56 et S28 disposent d'une bonne biodisponibilité orale en répondant favorablement aux règles de Lipinski et Veber et ce contrairement au similaire S20 qui est en violation avec ces 2 règles en présentant un PM supérieur à  $500 \text{ g/mole}$  et une surface polaire supérieure à  $140 \text{ Å}^2$ .

## Conclusion

L'analyse des propriétés pharmacocinétiques permet de confirmer que le composé S20, bien que présentant une bonne absorption gastro-intestinal et ne traverse pas la barrière hématoencéphalique, ne peut être retenu comme inhibiteur de l'enzyme Hsp90 en raison de l'inhibition de tous les isoformes du cytochrome P450 nécessaires à la métabolisation des xénobiotiques dans le foie. En revanche les 2 similaires S56 et S28 qui présentent une faible absorption gastro-intestinale mais qui n'inhibent que 2 CYPs, contre 3 dans le cas du ligand de référence YKE, peuvent être considérés comme inhibiteurs potentiels de l'enzyme Hsp90 à condition d'optimiser leur structure lors de la synthèse

En termes de perspectives d'avenir, ce travail pourra être complété et prolongé par une étude expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo* afin de valider nos résultats théoriques et vérifier l'efficacité de l'approche *in silico*.

Références bibliographiques :

**Références bibliographiques :**

Références bibliographiques :

**Références bibliographiques ;**

- [1]: Ritossa F. Discovery of the heat shock response. *Cell Stress Chaperones*. 1996;1:97–98
- [2]: Hoter A., El-Sabban M.E., Naim H.Y. The HSP90 Family: Structure, Regulation, Function, and Implications in Health and Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19:2560.
- [3]: Lindquist S., Craig E.A. The heat-shock proteins. *Annu. Rev. Genet.* 1988;22:631–637.
- [4]: Hendrick J.P., Hartl F. Molecular Chaperone Functions of Heat-Shock Proteins. *Annu Rev Biochem.* 1993;62:349–384.
- [5]: Pirkkala L., Sistonen L. Heat Shock Proteins (HSPs): Structure, Function and Genetics. *Encycl Life Sci.* 2006:1–7.
- [6]: Csermely P, Schnaider T, Soti C, Prohászka Z, Nardai G (August 1998). "The 90-kDa molecular chaperone family: structure, function, and clinical applications. A comprehensive review". *Pharmacol. Ther.* 79 (2): 129–68
- [7]:; Crevel G, Bates H, Huikeshoven H, Cotterill S (1 June 2001). "The Drosophila Dpit47 protein is a nuclear Hsp90 co-chaperone that interacts with DNA polymerase alpha". *J. Cell Sci.* 114 (Pt 11): 2015–25.
- [8]: Chen B, Zhong D, Monteiro A (2006). "Comparative genomics and evolution of the HSP90 family of genes across all kingdoms of organisms". *BMC Genomics.* 7: 156.
- [9]: homas JG, Baneyx F (October 1998). "Roles of the Escherichia coli Small Heat Shock Proteins IbpA and IbpB in Thermal Stress Management: Comparison with ClpA, ClpB, and HtpG In Vivo". *J. Bacteriol.* 180 (19): 5165–72.
- [10]: Graf, C.; Lee, C.T.; Eva Meier-Andrejszki, L.; Nguyen, M.T.; Mayer, M.P. Differences in conformational dynamics within the Hsp90 chaperone family reveal mechanistic insights. *Front. Mol. Biosci.* 2014, 1, 4.
- [11]:Li, J.; Soroka, J.; Buchner, J. The Hsp90 chaperone machinery: Conformational dynamics and regulation by co-chaperones. *Biochim. Biophys. Acta* 2012, 1823, 624–635.
- [12]: Hessling, M.; Richter, K.; Buchner, J. Dissection of the ATP-induced conformational cycle of the molecular chaperone Hsp90. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2009, 16, 287–293.

## Références bibliographiques :

- [13]: Genest, O.; Wickner, S.; Doyle, S.M. Hsp90 and Hsp70 chaperones: Collaborators in protein remodeling. *J. Biol. Chem.* 2019, 294, 2109–2120
- [14]: Li, J.; Richter, K.; Reinstein, J.; Buchner, J. Integration of the accelerator Aha1 in the Hsp90 co-chaperone cycle. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2013, 20, 326–331
- [15]: Retzlaff, M.; Stahl, M.; Eberl, H.C.; Lagleder, S.; Beck, J.; Kessler, H.; Buchner, J. Hsp90 is regulated by a switch point in the C-terminal domain. *EMBO Rep.* 2009, 10, 1147–1153.
- [16]: Severance, S.; Hamza, I. Trafficking of heme and porphyrins in metazoa. *Chem. Rev.* 2009, 109, 4596–4616
- [17]: Paoli, M.; Marles-Wright, J.; Smith, A. Structure—Function relationships in heme-proteins. *DNA Cell Biol.* 2002, 21, 271–280
- [18]: Ponka, P. Cell biology of heme. *Am. J. Med. Sci.* 1999, 318, 241–256
- [19]: Smith, A.T.; Veitch, N.C. Substrate binding and catalysis in heme peroxidases. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 1998, 2, 269–278.
- [20]: Taylor, B.L.; Zhulin, I.B. PAS domains: Internal sensors of oxygen, redox potential, and light. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 1999, 63, 479–506
- [21]: Taketani, S. Acquisition, mobilization and utilization of cellular iron and heme: Endless findings and growing evidence of tight regulation. *Tohoku J. Exp. Med.* 2005, 205, 297–318
- [22]: Steiner, H.; Kispal, G.; Zollner, A.; Haid, A.; Neupert, W.; Lill, R. Heme binding to a conserved Cys-Pro-Val motif is crucial for the catalytic function of mitochondrial heme lyases. *J. Biol. Chem.* 1996, 271, 32605–32611
- [23]: Dumont, M.E.; Cardillo, T.S.; Hayes, M.K.; Sherman, F. Role of cytochrome c heme lyase in mitochondrial import and accumulation of cytochrome c in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.* 1991, 11, 5487–5496
- [24]: Dumont, M.E.; Cardillo, T.S.; Hayes, M.K.; Sherman, F. Role of cytochrome c heme lyase in mitochondrial import and accumulation of cytochrome c in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.* 1991, 11, 5487–5496

## Références bibliographiques :

- [25]: Richard-Fogal, CL; Frawley, urgence ; Bonner, urgence ; Zhu, H.; San Francisco, B.; Kranz, RG A a conservé la voie d'oxydoréduction et de trafic de l'hème pour l'attachement du cofacteur. *EMBO J.* 2009 , 28 , 2349–2359
- [26]: Ouest, AR ; Oates, PS Mécanismes d'absorption du fer héminique : questions et controverses actuelles. *Monde J. Gastroenterol.* 2008 , 14 , 4101–4110
- [27]: Yi, L.; Jenkins, PM ; Leichert, LI; Jakob, U. ; Martens, JR; Ragsdale, SW Les motifs régulateurs de l'hème dans l'hème oxygénase-2 forment un commutateur redox thiol/disulfure qui répond à l'état redox cellulaire. *J. Biol. Chim.* 2009 , 284 , 20556–20561.
- [28]: Fleming, MD; Hamza, I. Hème mitochondrial : une stratégie de sortie enfin. *J.Clin. Enquête* 2012 , 122 , 4328–4330.
- [29]: Tsiftoglou, AS ; Tsamadou, AI; Papadopoulou, LC Heme en tant que régulateur clé des principales fonctions cellulaires des mammifères : aspects moléculaires, cellulaires et pharmacologiques. *Pharmacol. Là.* 2006 , 111 , 327–345.
- [30]: Wijayanti, N.; Katz, N.; Immenschuh, S. Biologie de l'hème dans la santé et la maladie. *Courant. Méd. Chim.* 2004 , 11 , 981–986.
- [31]: Chiabrando, D.; Marro, S.; Mercurio, S.; Giorgi, C.; Petrillo, S.; Vinchi, F.; Fiorito, V.; Fagoonee, S.; Camporeale, A.; Turco, E.; et coll. L'exportateur d'hème mitochondrial FLVCR1b intervient dans la différenciation érythroïde. *J.Clin. Enquête* 2012 , 122 , 4569–4579.
- [32]: Byon, JC; Chen, J.; Doty, RT ; Abkowitz, JL FLVCR est nécessaire à la maturation érythroïde, peut contribuer à la maturation plaquettaire, mais est indispensable au fonctionnement normal des cellules souches hématopoïétiques. *Sang* 2013 , 122 , 2903–2910
- [33]: Ghosh, A.; Chawla-Sarkar, M.; Stuehr, DJ Hsp90 interagit avec la protéine cliente inductible NO synthase dans son état sans hème, puis entraîne l'insertion de l'hème par un processus dépendant de l'ATP. *FASEB J.* 2011 , 25 , 2049–2060
- [34]: Ghosh, A.; Stuehr, DJ La guanylyl cyclase soluble nécessite la protéine de choc thermique 90 pour l'insertion de l'hème pendant la maturation de l'enzyme NO-active. *Proc. Natl. Acad. Sci. États-Unis* 2012 , 109 , 12998–13003.



## Références bibliographiques :

- [35]: Billecke, SS; Draganov, DI; Morishima, Y.; Murphy, PJ; Dunbar, AY; Pratt, WB; Osawa, Y. Le rôle de Hsp90 dans l'activation dépendante de l'hème de la synthase d'oxyde nitrique apo-neuronale. *J. Biol. Chim.* 2004 , 279 , 30252–30258.
- [36]: Dai, Y.; Faul, EM ; Ghosh, A.; Stuehr, DJ NO mobilise rapidement l'hème cellulaire pour déclencher l'assemblage de son propre récepteur. *Proc. Natl. Acad. Sci. États-Unis* 2022 , 119 , e2115774119.
- [37]: Ignarro, LJ; Adams, JB; Horwitz, PM ; Wood, KS L'activation de la guanylate cyclase soluble par les NO-hémoprotéines implique l'échange de NO-hème. Comparaison des formes enzymatiques contenant de l'hème et déficientes en hème. *J. Biol. Chim.* 1986 , 261 , 4997–5002.
- [38]: Chen, F.; Pandey, D.; Chadli, A.; Catravas, JD ; Chen, T.; Fulton, DJ Hsp90 régule l'activité de la NADPH oxydase et est nécessaire pour la production de superoxyde mais pas de peroxyde d'hydrogène. *Antioxydant. Signal redox.* 2011 , 14 , 2107–2119.
- [39]: Cai, H.; Harrison, DG Dysfonction endothéliale dans les maladies cardiovasculaires : Le rôle du stress oxydant. *Circ. Rés.* 2000 , 87 , 840–844.
- [40]: Griendling, KK; Sorescu, D.; Ushio-Fukai, M. NAD(P)H oxydase : rôle dans la biologie et les maladies cardiovasculaires. *Circ. Rés.* 2000 , 86 , 494–501.
- [41]: Sweeny, EA ; Schlanger, S.; Stuehr, DJ Régulation dynamique de la NADPH oxydase 5 par les niveaux d'hème intracellulaire et les chaperons cellulaires. *Rédox Biol.* 2020 , 36 , 101656
- [42]: Ghosh, A.; Garee, G.; Sweeny, E.A.; Nakamura, Y.; Stuehr, D.J. Hsp90 chaperones hemoglobin maturation in erythroid and nonerythroid cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2018, 115, E1117–E1126
- [43]: Ghosh, A.; Dai, Y.; Biswas, P.; Stuehr, D.J. Myoglobin maturation is driven by the Hsp90 chaperone machinery and by soluble guanylyl cyclase. *FASEB J.* 2019, 33, 9885–9896.
- [44]: Tupta, B.; Stuehr, E.; Sumi, M.P.; Sweeny, E.A.; Smith, B.; Stuehr, D.J.; Ghosh, A. GAPDH is involved in the heme-maturation of myoglobin and hemoglobin. *FASEB J.* 2022, 36, e22099

## Références bibliographiques :

- [45]: Zheng, Y.; Miyamoto, D.T.; Wittner, B.S.; Sullivan, J.P.; Aceto, N.; Jordan, N.V.; Yu, M.; Karabacak, N.M.; Comaills, V.; Morris, R.; et al. Expression of beta-globin by cancer cells promotes cell survival during blood-borne dissemination. *Nat. Commun.* 2017, 8, 14344
- [46]: Maman, S.; Sagi-Assif, O.; Yuan, W.; Ginat, R.; Meshel, T.; Zubrilov, I.; Keisari, Y.; Lu, W.; Lu, W.; Witz, I.P. The Beta Subunit of Hemoglobin (HBB2/HBB) Suppresses Neuroblastoma Growth and Metastasis. *Cancer Res.* 2017, 77, 14–26.
- [47]: Kato, G.J.; Steinberg, M.H.; Gladwin, M.T. Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. *J. Clin. Investig.* 2017, 127, 750–760.
- [48]: Sundd, P.; Gladwin, M.T.; Novelli, E.M. Pathophysiology of Sickle Cell Disease. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 2019, 14, 263–292
- [49]: Taher, A.T.; Weatherall, D.J.; Cappellini, M.D. Thalassaemia. *Lancet* 2018, 391, 155–167.
- [50]:. Hoter A., El-Sabban M.E., Naim H.Y. The HSP90 Family: Structure, Regulation, Function, and Implications in Health and Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19:2560
- [51]: Dubey A., Prajapati K.S., Swamy M., Pachauri V. Heat shock proteins: A therapeutic target worth to consider. *Vet. World.* 2015;8:46–51. doi: 10.14202/vetworld.2015.46-51.
- [52]: Chen B, Piel WH, Gui L, Bruford E, Monteiro A (December 2005). "The HSP90 family of genes in the human genome: insights into their divergence and evolution". *Genomics.* 86 (6): 627–37.
- [53]: Goetz MP, Toft DO, Ames MM, Erlichman C (August 2003). "The Hsp90 chaperone complex as a novel target for cancer therapy". *Ann. Oncol.* 14 (8): 1169–76.
- [54]: Kampinga HH, Hageman J., Vos MJ, Kubota H., Tanguay RM, Bruford EA, Cheetham ME, Chen B., Hightower LE Directives pour la nomenclature des protéines humaines de choc thermique. *Chaperons de stress cellulaire.* 2009 ; 14 :105–111.
- [55]: Li J., Buchner J. Structure, fonction et régulation de la machinerie Hsp90. *Biomédical. J.* 2012 ; 36 : 106–117.
- [56]: Langer T., Rosmus S., Fasol H. Localisation intracellulaire de la protéine de choc thermique de 90 kDA (HSP90 $\alpha$ ) déterminée par l'expression d'une protéine de fusion EGFP-HSP90 $\alpha$  dans des cellules 3T3 non stressées et stressées par la chaleur. *Cell Biol. Int.* 2003 ; 27 : 47–52

## Références bibliographiques :

- [57]: Prodromou C. Mécanismes de régulation Hsp90. *Biochimie. J.* 2016 ; 473 :2439–2452
- [58]: Li J., Soroka J., Buchner J. La machinerie des chaperons Hsp90 : dynamique conformationnelle et régulation par les co-chaperons. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.* 2012 ; 1823 :624–635
- [59]: Didenko T., Duarte AMS, Karagöz GE, Rüdiger SGD Hsp90 structure et fonction étudiées par spectroscopie RMN. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.* 2012 ; 1823 :636–647.
- [60]: Jackson SE Hsp90 : Structure et fonction. *Haut. Courant. Chim.* 2013 ; 328 :155–240
- [61]: Avery LA, Partridge JR, Ramelot TA, Elnatan D., Kennedy MA, Agard DA L'asymétrie structurale à l'état fermé de la Hsp90 mitochondriale (TRAP1) prend en charge un mécanisme d'hydrolyse de l'ATP en deux étapes. *Mol. Cellule.* 2014 ; 53 : 330–343
- [62]: Sreedhar AS, Kalmár É., Csermely P., Isoformes Shen YF Hsp90 : Fonctions, expression et importance clinique. *FEBS Lett.* 2004 ; 562 : 11–15
- [63]: Csermely P., Schnaider T., Soti C., Prohászka Z., Nardai G. La famille des chaperons moléculaires de 90 kDa : structure, fonction et applications cliniques. Un examen complet. *Pharmacol. Là.* 1998 ; 79 :129–168.
- [64]: Tsutsumi S., Mollapour M., Prodromou C., Lee C.-T., Panaretou B., Yoshida S., Mayer MP, Neckers LM La séquence de liaison chargée module l'activité chaperon de la protéine de choc thermique eucaryote 90 (Hsp90). *Proc. Natl. Acad. Sci. ETATS-UNIS.* 2012 ; 109 :2937–2942.
- [65]: Pearl LH, Prodromou C (February 2000). "Structure and in vivo function of Hsp90". *Curr. Opin. Struct. Biol.* 10 (1): 46–51
- [66]: Prodromou C, Pearl LH (October 2003). "Structure and functional relationships of Hsp90". *Curr Cancer Drug Targets.* 3 (5): 301–23.
- [67]: Pearl LH, Prodromou C (2001). "Structure, function, and mechanism of the Hsp90 molecular chaperone". *Protein Folding in the Cell. Adv. Protein Chem. Advances in Protein Chemistry.* Vol. 59. pp. 157–86.
- [68]: Whitesell L., Lindquist S.L. HSP90 and the chaperoning of cancer. *Nat. Rev. Cancer.* 2005;5:761–772.

## Références bibliographiques :

- [69]: Jackson S.E. HSP90: Structure and function. *Top Curr. Chem.*
- [70]: Lavery L.A., Partridge J.R., Ramelot T.A., Elnatan D., Kennedy M.A., Agard D.A. Structural asymmetry in the closed state of mitochondrial HSP90 (TRAP1) supports a two-step ATP hydrolysis mechanism. *Mol. Cell.* 2014;53:330–343.
- [71]: Sreedhar A.S., Kalmár E., Csermely P., Shen Y.F. HSP90 isoforms: Functions, expression and clinical importance. *FEBS Lett.* 2004;562:11–15.
- [72]: Csermely P., Schnaider T., Soti C., Prohászka Z., Nardai G. The 90-kDa molecular chaperone family: Structure, function, and clinical applications. A comprehensive review. *Pharmacol. Ther.* 1998;79:129–168.
- [73]: Prodromou C., Roe S.M., Piper P.W., Pearl L.H. A molecular clamp in the crystal structure of the N-terminal domain of the yeast Hsp90 chaperone. *Nat. Struct. Biol.* 1997;4:477–482.
- [74]: Dutta R., Inouye M. GHKL, an emergent ATPase/kinase superfamily. *Trends Biochem. Sci.* 2000;25:24–28.
- [75]: Panaretou B., Prodromou C., Roe S.M., O'Brien R., Ladbury J.E., Piper P.W., Pearl L.H. ATP binding and hydrolysis are essential to the function of the Hsp90 molecular chaperone in vivo. *EMBO J.* 1998;17:4829–4836.
- [76]: Tsutsumi S., Mollapour M., Graf C., Lee C.T., Scroggins B.T., Xu W., Haslerova L., Hessling M., Konstantinova A.A., Trepel J.B., et al. Hsp90 charged-linker truncation reverses the functional consequences of weakened hydrophobic contacts in the N domain. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2009;16:1141–1147.
- [77]: Shiau A.K., Harris S.F., Southworth D.R., Agard D.A. Structural Analysis of E. coli Hsp90 Reveals Dramatic Nucleotide-Dependent Conformational Rearrangements. *Cell.* 2006;127:329–340
- [78]: Scheibel T., Siegmund H.I., Jaenicke R., Ganz P., Lilie H., Buchner J. The charged region of Hsp90 modulates the function of the N-terminal domain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999;96:1297–1302.
- [79]: Louvion J.F., Warth R., Picard D. Two eukaryote-specific regions of Hsp82 are dispensable for its viability and signal transduction functions in yeast. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996;93:13937–13942.

## Références bibliographiques :

[80]: Meyer P., Prodromou C., Hu B., Vaughan C., Roe S.M., Panaretou B., Piper P.W., Pearl L.H. Structural and functional analysis of the middle segment of Hsp90: Implications for ATP hydrolysis and client protein and cochaperone interactions. *Mol. Cell.* 2003;11:647–658.

[81]: : Huai Q., Wang H., Liu Y., Kim H.Y., Toft D., Ke H. Structures of the N-terminal and middle domains of *E. coli* Hsp90 and conformation changes upon ADP binding. *Structure.* 2005;13:579–590.

[82]: Minami Y., Kawasaki H., Suzuki K., Yahara I. The calmodulin-binding domain of the mouse 90-kDa heat shock protein. *J. Biol. Chem.* 1993;268:9604–9610

[83]: Toft D., Meng X., Devin J., Sullivan W., Baulieu E., Catelli M. Mutational analysis of Hsp90 alpha dimerization and subcellular localization: Dimer disruption does not impede “in vivo” interaction with estrogen receptor. *J. Cell Sci.* 1996;109:1677–1687.

[84]: Soti C., Vermes Á., Haystead T.A.J., Csermely P. Comparative analysis of the ATP-binding sites of Hsp90 by nucleotide affinity cleavage: A distinct nucleotide specificity of the C-terminal ATP-binding site. *Eur. J. Biochem.* 2003;270:2421–2428.

[85]: Marcu M.G., Schulte T.W., Neckers L. Novobiocin and Related Coumarins and Depletion of Heat Shock Protein 90-Dependent Signaling Proteins. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* 2000;92:242–248.

[86]: Yin Z., Henry E.C., Gasiewicz T.A. (–)-Epigallocatechin-3-gallate is a novel Hsp90 inhibitor. *Biochemistry.* 2009;48:336–345

[87]: Young J.C., Schneider C., Hartl F.U. In vitro evidence that Hsp90 contains two independent chaperone sites. *FEBS Lett.* 1997;418:139–143

[88]: Sullivan W.P., Toft D.O. Mutational analysis of Hsp90 binding to the progesterone receptor. *J. Biol. Chem.* 1993;268:20373–20379.

[89]: Garg G., Khandelwal A., Blagg B.S.J. Chapter Three—Anticancer Inhibitors of Hsp90 Function: Beyond the Usual Suspects. In: Isaacs J., Whitesell L., editors. *Hsp90 in Cancer: Beyond the Usual Suspects.* Volume 129. Academic Press; Cambridge, MA, USA: 2016. pp. 51–88. *Advances in Cancer Research.*

[90]: Birbo B , Role of HSP90 in Cancer, *Int J Mol Sci.* 2021 Oct; 22(19): 10317.

## Références bibliographiques :

[91]: Ali MM, Roe SM, Vaughan CK, Meyer P, Panaretou B, Piper PW, Prodromou C, Pearl LH (avril 2006). "Structure cristalline d'un complexe chaperon fermé Hsp90-nucléotide-p23/Sba1" . *Nature* . 440 (7087): 1013–7

[92]: Meyer P, Prodromou C, Hu B, Vaughan C, Roe SM, Panaretou B, Piper PW, Pearl LH (March 2003). "Structural and functional analysis of the middle segment of Hsp90: implications for ATP hydrolysis and client protein and cochaperone interactions" (PDF). *Mol. Cell*. 11 (3): 647–58

[93]: ; Prodromou C, Pearl LH (octobre 2003). "Structure et relations fonctionnelles de Hsp90". *Cibles curr des médicaments anticancéreux* . 3 (5): 301–23.

[94]: Stebbins CE, Russo AA, Schneider C, Rosen N, Hartl FU, Pavletich NP (April 1997). "Crystal structure of an Hsp90-geldanamycin complex: targeting of a protein chaperone by an antitumor agent". *Cell*. 89 (2): 239–50.

[95] : Prodromou C, Roe SM, O'Brien R, Ladbury JE, Piper PW, Pearl LH (July 1997). "Identification and structural characterization of the ATP/ADP-binding site in the Hsp90 molecular chaperone". *Cell*. 90 (1): 65–75.

[96]: 13 : Prodromou C, Pearl LH (October 2003). "Structure and functional relationships of Hsp90". *Curr Cancer Drug Targets*. 3 (5): 301–23

[97]: Sato S, Fujita N, Tsuruo T (September 2000). "Modulation of Akt kinase activity by binding to Hsp90". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97 (20): 10832–7

[98]: Fontana J, Fulton D, Chen Y, Fairchild TA, McCabe TJ, Fujita N, Tsuruo T, Sessa WC (May 2002). "Domain mapping studies reveal that the M domain of Hsp90 serves as a molecular scaffold to regulate Akt-dependent phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase and NO release". *Circ. Res.* 90 (8): 866–73.

[99]: Meyer P, Prodromou C, Hu B, Vaughan C, Roe SM, Panaretou B, Piper PW, Pearl LH (March 2003). "Structural and functional analysis of the middle segment of Hsp90: implications for ATP hydrolysis and client protein and cochaperone interactions" (PDF). *Mol. Cell*. 11 (3): 647–58

[100]: Panaretou B, Siligardi G, Meyer P, Maloney A, Sullivan JK, Singh S, Millson SH, Clarke PA, Naaby-Hansen S, Stein R, Cramer R, Mollapour M, Workman P, Piper PW, Pearl LH,

## Références bibliographiques :

Prodromou C (December 2002). "Activation of the ATPase activity of Hsp90 by the stress-regulated cochaperone *aha1*" (PDF). *Mol. Cell.* 10 (6): 1307–18.

[101]: Marcu MG, Chadli A, Bouhouche I, Catelli M, Neckers LM (November 2000). "The heat shock protein 90 antagonist novobiocin interacts with a previously unrecognized ATP-binding domain in the carboxyl terminus of the chaperone". *J. Biol. Chem.* 275 (47): 37181–6

[102]: Söti C, Rácz A, Csermely P (March 2002). "A Nucleotide-dependent molecular switch controls ATP binding at the C-terminal domain of Hsp90. N-terminal nucleotide binding unmasks a C-terminal binding pocket". *J. Biol. Chem.* 277 (9): 7066–75.

[103]: Young JC, Obermann WM, Hartl FU (July 1998). "Specific binding of tetratricopeptide repeat proteins to the C-terminal 12-kDa domain of Hsp90". *J. Biol. Chem.* 273 (29): 18007–10.

[104]: Goetz MP, Toft DO, Ames MM, Erlichman C (August 2003). "The Hsp90 chaperone complex as a novel target for cancer therapy". *Ann. Oncol.* 14 (8): 1169–76.

[105]: Didenko T, Duarte AM, Karagöz GE, Rüdiger SG (March 2012). "Hsp90 structure and function studied by NMR spectroscopy". *Biochim. Biophys. Acta.* 1823 (3): 636–47

[106]: Wegele H, Müller L, Buchner J (2004). Hsp70 and Hsp90--a relay team for protein folding. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology.* Vol. 151. pp. 1–44.

[107]: Chiosis G, Caldas Lopes E, Solit D (June 2006). "Heat shock protein-90 inhibitors: a chronicle from geldanamycin to today's agents". *Curr Opin Investig Drugs.* 7 (6): 534–41

[108]: Goetz MP, Toft DO, Ames MM, Erlichman C (August 2003). "The Hsp90 chaperone complex as a novel target for cancer therapy". *Ann. Oncol.* 14 (8): 1169–76

[109]: Pratt WB, Toft DO (1 February 2003). "Regulation of signaling protein function and trafficking by the Hsp90/hsp70-based chaperone machinery". *Exp. Biol. Med. (Maywood).* 228 (2): 111–33

[110]: Oh SH, Woo JK, Yazici YD, Myers JN, Kim WY, Jin Q, Hong SS, Park HJ, Suh YG, Kim KW, Hong WK, Lee HY (June 2007). "Structural basis for depletion of heat shock protein 90 client proteins by deguelin". *J. Natl. Cancer Inst.* 99 (12): 949–61

## Références bibliographiques :

- [111]: Hadden MK, Galam L, Gestwicki JE, Matts RL, Blagg BS (December 2007). "Derrubone, an inhibitor of the Hsp90 protein folding machinery". *J. Nat. Prod.* 70 (12): 2014–8.
- [112]: Martin CJ, Gaisser S, Challis IR, Carletti I, Wilkinson B, Gregory M, Prodromou C, Roe SM, Pearl LH, Boyd SM, Zhang MQ (May 2008). "Molecular characterization of macbecin as an Hsp90 inhibitor". *J. Med. Chem.* 51 (9): 2853–7
- [113]: O'Boyle NM, Knox AJ, Price TT, Williams DC, Zisterer DM, Lloyd DG, Meegan MJ (octobre 2011). "Identification principale des  $\beta$ -lactamines et des inhibiteurs d'imine apparentés de la protéine de choc thermique chaperonne moléculaire 90". *Bioorg. Méd. Chim.* 19 (20): 6055–68.
- [114]: Grenert JP, Sullivan WP, Fadden P, Haystead TA, Clark J, Mimnaugh E, Krutzsch H, Ochel HJ, Schulte TW, Sausville E, Neckers LM, Toft DO (September 1997). "The amino-terminal domain of heat shock protein 90 (Hsp90) that binds geldanamycin is an ATP/ADP switch domain that regulates Hsp90 conformation". *J. Biol. Chem.* 272 (38): 23843–50.
- [115]: Xu Z, Horwich AL, Sigler PB (August 1997). "The crystal structure of the asymmetric GroEL-GroES-(ADP)<sub>7</sub> chaperonin complex". *Nature.* 388 (6644): 741–50.
- [116]: Wegele H, Müller L, Buchner J (2004). Hsp70 and Hsp90--a relay team for protein folding. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology.* Vol. 151. pp. 1–44.
- [117]: Kampranis SC, Bates AD, Maxwell A (July 1999). "A model for the mechanism of strand passage by DNA gyrase". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96 (15): 8414–9.
- [118]: Buchner J (April 1999). "Hsp90 & Co. - a holding for folding". *Trends Biochem. Sci.* 24 (4): 136–41.
- [119]: Miyata Y, Yahara I (April 1992). "The 90-kDa heat shock protein, Hsp90, binds and protects casein kinase II from self-aggregation and enhances its kinase activity". *J. Biol. Chem.* 267 (10): 7042–7.
- [120]: Wiech H, Buchner J, Zimmermann R, Jakob U (July 1992). "Hsp90 chaperones protein folding in vitro". *Nature.* 358 (6382): 169–70



## Références bibliographiques :

- [121]: Jakob U, Lilie H, Meyer I, Buchner J (March 1995). "Transient interaction of Hsp90 with early unfolding intermediates of citrate synthase. Implications for heat shock in vivo". *J. Biol. Chem.* 270 (13): 7288–94
- [122]: Picard D (October 2002). "Heat-shock protein 90, a chaperone for folding and regulation". *Cell. Mol. Life Sci.* 59 (10): 1640–8
- [123]: Imai J, Maruya M, Yashiroda H, Yahara I, Tanaka K (July 2003). "The molecular chaperone Hsp90 plays a role in the assembly and maintenance of the 26S proteasome". *EMBO J.* 22 (14): 3557–67.
- [124]: Correia MA, Sadeghi S, Mundo-Paredes E (2005). "Cytochrome P450 ubiquitination: branding for the proteolytic slaughter?". *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 45: 439–64.
- [125]: Kimura Y, Matsumoto S, Yahara I (March 1994). "Temperature-sensitive mutants of hsp82 of the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*". *Mol. Gen. Genet.* 242 (5): 517–27.
- [126]: Pratt WB, Morishima Y, Murphy M, Harrell M (2006). "Chaperoning of glucocorticoid receptors". *Molecular Chaperones in Health and Disease. Handb Exp Pharmacol. Handbook of Experimental Pharmacology. Vol. 172.* pp. 111–38
- [127]: Grad I, Picard D (September 2007). "The glucocorticoid responses are shaped by molecular chaperones". *Mol. Cell. Endocrinol.* 275 (1–2): 2–12.
- [128]: Pratt WB, Galigniana MD, Morishima Y, Murphy PJ (2004). "Role of molecular chaperones in steroid receptor action". *Essays Biochem.* 40: 41–58.
- [129]: Rafestin-Oblin ME, Couette B, Radanyi C, Lombes M, Baulieu EE (June 1989). "Mineralocorticosteroid receptor of the chick intestine. Oligomeric structure and transformation". *J. Biol. Chem.* 264 (16): 9304–9
- [130]: Joab I, Radanyi C, Renoir M, Buchou T, Catelli MG, Binart N, Mester J, Baulieu EE (1984). "Common non-hormone binding component in non-transformed chick oviduct receptors of four steroid hormones". *Nature.* 308 (5962): 850–3.
- [131]: Redeuilh G, Moncharmont B, Secco C, Baulieu EE (May 1987). "Subunit composition of the molybdate-stabilized "8-9 S" nontransformed estradiol receptor purified from calf uterus". *J. Biol. Chem.* 262 (15): 6969–75

## Références bibliographiques :

[132]: Catelli MG, Binart N, Jung-Testas I, Renoir JM, Baulieu EE, Feramisco JR, Welch WJ (December 1985). "The common 90-kd protein component of non-transformed '8S' steroid receptors is a heat-shock protein". *EMBO J.* 4 (12): 3131–5.

[133]: Davies TH, Ning YM, Sánchez ER (February 2002). "A new first step in activation of steroid receptors: hormone-induced switching of FKBP51 and FKBP52 immunophilins". *J. Biol. Chem.* 277 (7): 4597–600.

[134]: Pałyga J, Kozłowski Ł (2007). "Structure and function of molecular chaperone HSP90". *Sowriemiennyj Naucznyj Wiestnik Ser. Biologija Chimija.* 15 (23): 46–65.

[135]: Lurje G, Lenz HJ (2009). "EGFR Signaling and Drug Discovery". *Oncology.* 77 (6): 400–410.

[136]: Sawai A, Chandarlapaty S, Greulich H, Gonen M, Ye Q, Arteaga CL, Sellers W, Rosen N, Solit DB (January 2008). "Inhibition of Hsp90 down-regulates mutant epidermal growth factor receptor (EGFR) expression and sensitizes EGFR mutant tumors to paclitaxel". *Cancer Res.* 68 (2): 589–96.

[137]: Paez-Ribes M, González-Gualda E, Doherty GJ, Muñoz-Espín D (2019). "Targeting senescent cells in translational medicine". *EMBO Molecular Medicine.* 11 (12): e10234

[138]: Stebbins CE, Russo AA, Schneider C, Rosen N, Hartl FU, Pavletich NP (April 1997). "Crystal structure of an Hsp90-geldanamycin complex: targeting of a protein chaperone by an antitumor agent". *Cell.* 89 (2): 239–50.

[139]: Mohsin SK, Weiss HL, Gutierrez MC, Chamness GC, Schiff R, Digiovanna MP, Wang CX, Hilsenbeck SG, Osborne CK, Allred DC, Elledge R, Chang JC (April 2005). "Neoadjuvant trastuzumab induces apoptosis in primary breast cancers". *J. Clin. Oncol.* 23 (11): 2460–8.

[140]: malley M, Natarajan SK, Mondal J, Best D, Goldman D, Shanthappa B, et al. (December 2020). "Nanoengineered Disruption of Heat Shock Protein 90 Targets Drug-Induced Resistance and Relieves Natural Killer Cell Suppression in Breast Cancer". *Cancer Research.* 80 (23): 5355–5366.

[141]: Calderwood SK, Khaleque MA, Sawyer DB, Ciocca DR (March 2006). "Heat shock proteins in cancer: chaperones of tumorigenesis". *Trends in Biochemical Sciences.* 31 (3): 164–72

## Références bibliographiques :

- [142]: Fontana J, Fulton D, Chen Y, Fairchild TA, McCabe TJ, Fujita N, Tsuruo T, Sessa WC (May 2002). "Domain mapping studies reveal that the M domain of Hsp90 serves as a molecular scaffold to regulate Akt-dependent phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase and NO release". *Circ. Res.* 90 (8): 866–73
- [143]: Calderwood SK, Khaleque MA, Sawyer DB, Ciocca DR (March 2006). "Heat shock proteins in cancer: chaperones of tumorigenesis". *Trends in Biochemical Sciences.* 31 (3): 164–72.
- [144]: Eustace BK, Sakurai T, Stewart JK, Yimlamai D, Unger C, Zehetmeier C, Lain B, Torella C, Henning SW, Beste G, Scroggins BT, Neckers L, Ilag LL, Jay DG (June 2004). "Functional proteomic screens reveal an essential extracellular role for Hsp90 alpha in cancer cell invasiveness". *Nat. Cell Biol.* 6 (6): 507–14.
- [145]: Sato S, Fujita N, Tsuruo T (September 2000). "Modulation of Akt kinase activity by binding to Hsp90". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97 (20): 10832–7.
- [146]: Whitesell L, Lindquist SL (October 2005). "Hsp90 and the chaperoning of cancer". *Nat. Rev. Cancer.* 5 (10): 761–72.
- [147]: Maiti S et al Cytosolic Hsp90 Isoform-Specific Functions and Clinical Significance , *Biomolecules* 2022, 12(9), 1166;
- [148] Fortuné A. Techniques de Modélisation Moléculaire Appliquées à l'Etude et à l'Optimisation de Molécules Immunogènes et de Modulateurs de la Chimiorésistance. Thèse de doctorat d'université : Sciences du médicament. Grenoble : Université Joseph Fourier - Grenoble I. France. 2006. 168p
- [149] Krid A. Modélisation de nouvelles molécules biologiques actives liées au stress oxydant. Thèse de magister d'université : chimie théorique. Constantine: Université Mentouri de Constantine. Algérie. 2008. 75p
- [150] Bensegueni A. Etude théorique des métabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan de l'activité biologique : simulation par docking (arrimage) moléculaire sur la lipoxigénase et la cyclooxygénase. Thèse de doctorat

## Références bibliographiques :

d'université :Biochimie appliquée. Constantine : Université Mentouri de Constantine.

Algérie. 2007. 76p.

[151]: I. Halperin, B. Ma, H. Wolfson, and R. Nussinov, "Principles of Docking : An Overview of Search Algorithms and a Guide to Scoring Functions," *PROTEINS Struct. Funct.*

*Genet.*, vol. 443, no. 47, pp. 409–443, 2002, doi: 10.1002/prot.10115

[152] Mokrani E. H. Contribution à l'amélioration de l'activité biologique des inhibiteurs de la dipeptidyl-peptidase 4 dans le diabète de type 2 par simulation

informatique. Thèse de magister d'université : Technologie des explorations

biochimiques. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2012. 75p

[153] R. D. Taylor, P. J. Jewsbury, and J. W. Essex, "FDS : Flexible Ligand and Receptor

Docking with a Continuum Solvent Model and Soft-Core Energy Function," *J. Comput.*

*Chem*, vol. 24, no. 13, pp. 1637–1656, 2003.

[154] A. Bessadok, "La multiplicité de transport de la P-glycoprotéine : Etudes de modélisation comparative et de docking au sein de la famille des protéines ABC Anis Bessadok To cite this version : HAL Id : tel-00711662 La multiplicité de transport de la Pglycoprotéine : Etudes de modélisation comparative et de docking au sein de la famille des Bioinformatics. Retrieved January 29, 2012.

protéines ABC," 2012

[155]: N. M. O. Boyle, M. Banck, C. A. James, C. Morley, T. Vandermeersch, and G. R.

Hutchison, "Open Babel : An open chemical toolbox," *J. Cheminform.*, pp. 1–14, 2011.

[156]: Humphrey, William; Dalke, Andrew; Schulten, Klaus (February 1996). "VMD: Visual molecular dynamics". *Journal of Molecular Graphics*. 14 (1): 33–38

[157]: Massachusetts Institute of Technology. NIH Resource for Macromolecular Modeling and Modeling and Bioinformatics. Retrieved January 29, 2012.

## Références bibliographiques :

[158]: Theoretical and Computational Biophysics Group. NIH Center for Macromolecular Modeling & Bioinformatics, University of Illinois at Urbana–Champaign. Retrieved 4 January 2016

[159]: H. M. Berman et al., “The Protein Data Bank,” Nucl.Ac.Res, vol. 28, no. 1, pp. 235–242, 2000.

[160]: S. Kim et al., “PubChem substance and compound databases,” Nucleic Acids Res., vol. 44, pp. 1–12, 2016.

[161]: Sumi.M et al , Hsp90 in Human Diseases: Molecular Mechanisms to Therapeutic Approaches, Cells 2022, 11(6), 976

[162]: Hoter .A et al , The HSP90 Family: Structure, Regulation, Function, and Implications in Health and Disease, Int J Mol Sci. 2018 Sep; 19(9): 2560.

[163]: site internet ; <https://en.wikipedia.org/wiki/Hsp90#/media/File:Hsp90cycle.jpg>

[164]: UniProt Consortium UniProt: The universal protein knowledge base in 2021. Nucleic Acids Res. 2021;49:D480–D489.

[165] : - Mme Lalout Wassila née soufi : contribution a la modélisation des interactions dans les biomolécules : cas de la maladie de parkinson , Chimie Théorique et Modélisation Moléculaire, université Aboubekr Belkaid de tlemcen,2016, 129 p.

[166 ] : Amina Merzoug : recherche de nouvelle molécules bioactives par criblage virtuel et applications a l’inhibition de la peptide déformylase , biochimie , Université des Frères Mentouri Constantine1, 2018 , 189 p

[167 ] - Teniou S. Conception in silico de nouveaux inhibiteurs de la topoisomérase I de cellules cancéreuses, Technologie des explorations biochimiques. Constantine : Université Mentouri Constantine. Algérie. 2012. 95 p

[168]: Chikhi A. Calculs et modélisations des interactions Peptide Deformylase–substances antibactériennes à l’aide de techniques de « docking » (arrimage) moléculaire. Thèse de Doctorat d’État en Microbiologie. 2007, 126 p.

[169] - Lipinski C , Lambardo A.F , Domoni B. W, Feney P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and

## Références bibliographiques :

developpement settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1997;23: 3-25

[170]: - Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H. Y., Smith, B. R., Ward, K. W., and Kopple

K.D., 2002, Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J. Med. Chem.* 45, 2615–2623.

[171]: BRAHMI AMINA et BOUGUERN ABIR : CARACTERISATION DE NOUVEAUX

INHIBITEURS DE LA RIPK1, ENZYME DE LA NÉCROPTOSE, mémoire de Master,

Université des Frères Mentouri Constantine1, 2019,136 p

[172]: AISSANI Lilia DABOUZ Sabrina : Application du docking moléculaire par

SURFLEX pour la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de la xanthine oxydase ,

mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine1, 2021,98 p

Annexe

# **Annexe**

Annexe N°1 : Les valeurs RMSD des 100 complexes.

Code protéine	Code ligand	RMSD	RMSD optimisé
1AGW	SU2	3.79	2.165
1BNQ	AL4	2.683	2.461
1DM2	HMD	3.2	1.577
1DTQ	FPT	3.583	1.512
1DTT	FTC	3.061	1.424
1DY9	2ZF	3.162	1.218
1EB2	BPO	3.257	1.787
1EET	BFU	2.982	1.419
1EP4	S11	1.248	
1EQG	IBP	3.168	2.012
1FS4	CRA	2.005	1.265



1G36	R11	3.885	1.601
1HW9	SIM	1.756	
1PRO	A88	3.958	1.924
1S9T	QUS	2.008	0.076
1TT1	KAI	5.514	1.524
1UZE	EAL	2.755	0.831
1WUT	BN2	3.768	1.694
1XOE	ABX	3.265	1.446
1Z3N	3NA	3.849	3.087
2AFW	AHN	3.912	1.434
2FDV	D2G	3.121	1.310
2R3R	6SC	2.820	1.267
2XF0	4UB	2.438	1.446

2XUD	DME	2.342	1.329
2YK9	YK9	2.544	0.35
2YKE	YKE	1.582	
3GN0	DMO	2.436	1.012
3HVH	542	4.709	2.272
3HVJ	705	6.085	2.363
3HVK	719	9.113	1.639
3MFV	Z70	4.036	1.527
3MW1	MIH	3.058	2.303
3NW9	637	5.626	0.599
3NWB	659	9.825	1.686
3NWE	662	1.175	
3OCZ	SRA	2.466	0.167

3OE4	610	2.732	2.080
3OE5	611	5.452	2.517
3OZR	OZR	3.903	1.304
3OZS	OZS	3.082	1.359
3OZT	OZZ	3.232	0.448
3PJ3	04L	2.851	1.816
3PO7	ZON	2.458	0.062
3QTQ	X35	2.634	2.095
3QXM	NDZ	3.525	1.829
3RDE	OYP	2.465	2.031
3S68	TCW	3.406	2.635
3U2C	SUZ	4.123	3.201
3VEU	0GO	3.897	1.714
3WAW	DWW	2.727	1.107

3WK4	S0A	1.501	
3WS8	X4C	2.025	1.248
4B72	2FB	3.539	2.292
4B80	A36	3.967	2.314
4B81	ZN4	4.622	1.403
4CQ0	SXS	3.193	1.753
4DIJ	BLF	3.509	1.822
4EZ8	NOH	4.399	2.924
4FCI	GPA	3.224	0.778
4FCK	GPA	4.049	0.262
4GQR	MYC	2.996	1.079
4HWW	X7A	28.287	3.795
4HXQ	X8A	3.696	2.563
4I0D	1B7	1.506	

4ISK	1JY	5.306	1.280
4JP9	1M5	2.073	0.062
4M0E	1YL	2.042	1.443
4M2R	BZ1	3.976	2.090
4MRW	MRW	2.606	0.077
4OTY	LUR	2.896	1.321
4PYL	TCW	3.182	1.763
4PYQ	2X1	6.657	0.970
4R68	W31	4.316	1.648
4RFZ	3OV	3.642	1.955
4S3E	0CG	5.234	1.102
4WK7	3PQ	2.085	1.3014
4WKE	3PU	3.038	1.588
4WKI	3PW	1.629	

4XUC	43G	1.938	
4XUD	43H	4.467	2.261
4Y30	49L	4.815	1.635
4ZG6	4NY	2.272	1.475
4ZG7	4O0	3.212	2.081
4ZGA	4O3	2.159	1.542
4ZX4	4TL	8.775	0.828
5AXP	4LK	2.520	1.540
5BWC	HBP	2.666	1.295
5I38	KOJ	1.701	
5JKW	TES	1.953	
5Q05	95S	2.606	0.779
5TFT	P6U	2.589	0.927
6ATB	BWA	3.641	1.643

6CZV	FOY	2.092	1.226
6FAF	D3B	3.616	1.396
6FAG	EON	1.990	
6HDQ	FZE	3.270	2.034
6HSK	GOK	3.756	3.012
6MSA	JY4	2.973	0.065
9HVP	0E9	9.948	1.629

Annexe N°2 : scores d'affinité obtenus par docking moléculaire avec Surfex des 178 similaires du ligand YKE .

N1	Pubchem(CID)	score
S1	11156535	3.65
S2	155551741	2.78
S3	143330770	5.02
S4	138665055	3.71
S5	73330894	2.48
S6	46880215	4.36
S7	11978556	4.36
S8	166093059	-14.78

S9	162748703	2.70
S10	162748702	2.70
S11	161231155	4.67
S12	160725443	3.47
S13	159347678	3.74
S14	158739488	-30.78
S15	157493217	-31.92
S16	157337642	3.76
S17	157331360	3.29
S18	156700875	2.75
S19	153809408	3.69
S20	146621809	6.03
S21	146621449	4.07
S22	145452098	2.16
S23	145249873	4.12
S24	144686915	3.83
S25	144667597	3.54
S26	144081057	3.69
S27	143724702	2.86
S28	143359591	6.28
S29	143359533	1.47
S30	141173003	4.18
S31	141159454	3.81



S32	141151608	3.91
S33	141126797	3.34
S34	141086361	2.82
S35	141079660	4.43
S36	141079659	4.47
S37	141079644	1.90
S38	141079635	1.84
S39	140809481	3.25
S40	138671833	1.28
S41	138671210	2.49
S42	138671098	2.65
S43	138670685	2.27
S44	138670294	2.93
S45	138670279	3.19
S46	137516403	-0.15
S47	137498266	3.04
S48	137498251	3.38
S49	137498170	4.35
S50	136649690	3.42
S51	134800574	3.17
S52	134796301	2.28
S53	134794779	1.23
S54	134289135	2.87

S55	123450005	2.87
S56	123445555	6.72
S57	118982727	5.57
S58	91513614	3.06
S59	91145580	4.62
S60	89658661	2.48
S61	74439618	2.53
S62	73214210	4.30
S63	69938418	1.93
S64	68913485	3.27
S65	68262863	4.88
S66	68262677	3.92
S67	67868485	1.31
S68	67574303	-0.54
S69	67467487	5.60
S70	66917379	3.03
S71	66917375	3.66
S72	59569259	4.49
S73	59208238	4.35
S74	59208203	2.92
S75	59208172	0.90
S76	59133060	0.13
S77	59018404	4.00

S78	58996944	2.54
S79	58724527	3.73
S80	58724467	2.64
S81	58279198	4.55
S82	58026613	2.02
S83	58026583	2.38
S84	58026580	2.49
S85	58026572	2.82
S86	58026563	2.49
S87	58026531	4.37
S88	58026494	2.59
S89	58026481	2.60
S90	58026480	3.21
S91	58026401	2.88
S92	50784404	5.37
S93	46349032	4.25
S94	42471306	4.54
S95	25277899	2.49
S96	19896795	3.53
S97	16678966	2.85
S98	16314196	3.87
S99	16190498	0.52
S100	16095364	2.02

S101	16062847	2.98
S102	11978793	2.25
S103	11857995	1.76
S104	11857991	3.35
S105	11857990	2.11
S106	11857916	2.96
S107	11857391	3.66
S108	11857321	3.22
S109	10128151	1.47
S110	137350193	2.13
S111	11978557	4.15
S112	24598853	4.48
S113	25341702	4.24
S114	25405863	3.83
S115	25515892	2.99
S116	26003159	2.50
S117	28731442	4.70
S118	29256635	4.30
S119	33117664	2.17
S120	36156839	3.43
S121	36455684	1.61
S122	42518462	2.98
S123	42518464	2.60

S124	46290616	4.77
S125	51144010	3.92
S126	52476042	3.75
S127	55483644	3.92
S128	55483726	3.26
S129	55494866	3.81
S130	56026144	3.40
S131	56297164	4.25
S132	56739567	3.60
S133	58023319	2.66
S134	58023334	3.55
S135	58023755	4.04
S136	58023830	2.08
S137	64195623	3.72
S138	70714339	2.95
S139	70722462	2.86
S140	70728922	3.22
S141	70735882	2.72
S142	70777258	3.32
S143	71910111	2.64
S144	72877742	2.94
S145	75490347	2.67
S146	75522638	1.28

S147	78769889	5.33
S148	86206783	2.67
S149	86803449	4.15
S150	86885424	2.56
S151	92561713	3.46
S152	92561714	3.92
S153	92561720	3.25
S154	95862356	2.60
S155	95862357	2.91
S156	96580435	3.73
S157	96580436	3.58
S158	97113244	3.53
S159	97113245	2.96
S160	100211489	3.44
S161	110241261	3.46
S162	110694961	2.98
S163	112524251	3.17
S164	112795450	3.67
S165	115668414	4.48
S166	116336890	3.73
S167	116338666	5.33
S168	125504747	2.18
S169	125504849	3.15

S170	133722313	3.13
S171	133781872	2.35
S172	137976672	3.22
S173	139983113	2.75
S174	146138372	3.25
S175	158373555	2.30
S176	166183888	-26.00
S177	166190014	-26.33
S178	166306592	-16.45

Annexe 3 : Classement des similaires par ordre décroissant de score :

N1	Pubchem(CID)	score
S56	123445555	6.72
S28	143359591	6.28
S20	146621809	6.03
S69	67467487	5.60
S57	118982727	5.57
S92	50784404	5.37
S147	78769889	5.33
S167	116338666	5.33
S3	143330770	5.02
S65	68262863	4.88
S124	46290616	4.77
S117	28731442	4.70

S11	161231155	4.67
S59	91145580	4.62
S81	58279198	4.55
S94	42471306	4.54
S72	59569259	4.49
S112	24598853	4.48
S165	115668414	4.48
S36	141079659	4.47
S35	141079660	4.43
S87	58026531	4.37
S6	46880215	4.36
S7	11978556	4.36
S49	137498170	4.35
S73	59208238	4.35
S62	73214210	4.30
S118	29256635	4.30
S93	46349032	4.25
S131	56297164	4.25
S113	25341702	4.24
S30	141173003	4.18
S111	11978557	4.15
S149	86803449	4.15
S23	145249873	4.12



S21	146621449	4.07
S135	58023755	4.04
S77	59018404	4.00
S66	68262677	3.92
S125	51144010	3.92
S127	55483644	3.92
S152	92561714	3.92
S32	141151608	3.91
S98	16314196	3.87
S24	144686915	3.83
S114	25405863	3.83
S31	141159454	3.81
S129	55494866	3.81
S16	157337642	3.76
S126	52476042	3.75
S13	159347678	3.74
S79	58724527	3.73
S156	96580435	3.73
S166	116336890	3.73
S137	64195623	3.72
S4	138665055	3.71
S19	153809408	3.69
S26	144081057	3.69

S164	112795450	3.67
S71	66917375	3.66
S107	11857391	3.66
S1	11156535	3.65
S132	56739567	3.60
S157	96580436	3.58
S134	58023334	3.55
S25	144667597	3.54
S96	19896795	3.53
S158	97113244	3.53
S12	160725443	3.47
S151	92561713	3.46
S161	110241261	3.46
S160	100211489	3.44
S120	36156839	3.43
S50	136649690	3.42
S130	56026144	3.40
S48	137498251	3.38
S104	11857991	3.35
S33	141126797	3.34
S142	70777258	3.32
S17	157331360	3.29
S64	68913485	3.27

S128	55483726	3.26
S39	140809481	3.25
S153	92561720	3.25
S174	146138372	3.25
S108	11857321	3.22
S140	70728922	3.22
S172	137976672	3.22
S90	58026480	3.21
S45	138670279	3.19
S51	134800574	3.17
S163	112524251	3.17
S169	125504849	3.15
S170	133722313	3.13
S58	91513614	3.06
S47	137498266	3.04
S70	66917379	3.03
S115	25515892	2.99
S101	16062847	2.98
S122	42518462	2.98
S162	110694961	2.98
S106	11857916	2.96
S159	97113245	2.96
S138	70714339	2.95

S144	72877742	2.94
S44	138670294	2.93
S74	59208203	2.92
S155	95862357	2.91
S91	58026401	2.88
S54	134289135	2.87
S55	123450005	2.87
S27	143724702	2.86
S139	70722462	2.86
S97	16678966	2.85
S34	141086361	2.82
S85	58026572	2.82
S2	155551741	2.78
S18	156700875	2.75
S173	139983113	2.75
S141	70735882	2.72
S9	162748703	2.70
S10	162748702	2.70
S145	75490347	2.67
S148	86206783	2.67
S133	58023319	2.66
S42	138671098	2.65
S80	58724467	2.64

S143	71910111	2.64
S89	58026481	2.60
S123	42518464	2.60
S154	95862356	2.60
S88	58026494	2.59
S150	86885424	2.56
S78	58996944	2.54
S61	74439618	2.53
S116	26003159	2.50
S41	138671210	2.49
S84	58026580	2.49
S86	58026563	2.49
S95	25277899	2.49
S5	73330894	2.48
S60	89658661	2.48
S83	58026583	2.38
S171	133781872	2.35
S175	158373555	2.30
S52	134796301	2.28
S43	138670685	2.27
S102	11978793	2.25
S168	125504747	2.18
S119	33117664	2.17

S22	145452098	2.16
S110	137350193	2.13
S105	11857990	2.11
S136	58023830	2.08
S82	58026613	2.02
S100	16095364	2.02
S63	69938418	1.93
S37	141079644	1.90
S38	141079635	1.84
S103	11857995	1.76
S121	36455684	1.61
S29	143359533	1.47
S109	10128151	1.47
S67	67868485	1.31
S40	138671833	1.28
S146	75522638	1.28
S53	134794779	1.23
S75	59208172	0.90
S99	16190498	0.52
S76	59133060	0.13
S46	137516403	-0.15
S68	67574303	-0.54
S8	166093059	-14.78

S178	166306592	-16.45
S176	166183888	-26.00
S177	166190014	-26.33
S14	158739488	-30.78
S15	157493217	-31.92

Présenté et soutenu par : Seif Eddine Temsi

Le : 22/06/2023

Oussama Hammim

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Spécialité : Biochimie Appliquée

**Thème : Application du programme de docking moléculaire Surfex pour la mise en évidence de nouveaux inhibiteurs de la protéine chaperonne Hsp90**

Résumé :

Dans le but de découvrir de nouveaux composés avec un meilleur effet inhibiteur que le composé YKE qui affecte 2yke, une enzyme impliquée dans l'exacerbation des tumeurs, le programme d'amarrage moléculaire Surfex a été utilisé pour aider à développer des molécules à activité thérapeutique. La performance du programme Surfex a été vérifiée par les valeurs du RMSD où 77% sont inférieures ou égales à 2 Å. Ce test a été suivi par une analyse visuelle du mécanisme d'amarrage des composés de référence et de ceux obtenus par docking moléculaire.

Un criblage virtuel a été réalisé sur 178 molécules avec un taux de similarité de 91% avec nos composés de référence que nous avons téléchargés depuis la chimiothèque « PubChem » afin d'évaluer leur affinité envers 2YKE.

Les résultats du criblage virtuel par le logiciel Surfex nous ont permis de choisir les 3 meilleurs inhibiteurs de la cible thérapeutique 2yke. Une analyse détaillée de leurs interactions avec l'enzyme a été réalisée

Enfin, l'application de la règle de Lipinski nous a permis de nous renseigner de manière positive sur les propriétés physico-chimiques de ces nouvelles molécules et par conséquent sur leur biodisponibilité orale.

Cette étude étant initiale, il est nécessaire de vérifier et de valider ces résultats théoriques par une étude expérimentale *in vitro* et/ou *in vivo*.

Mot clés : molecular docking, Surfex, RMSD, 2yke, cancer, inhibition, Règle de Lipinski.

Laboratoire de recherche : Biochimie appliquée

Jury d'évaluation :

- Président du jury : Mr Chikhi Abdelouahab (Professeur)
- Rapporteur : Mr Bensegueni Abderrahmane (Professeur)
- Examineur : Mr Mokrani El Hassen (Maître de Conférences A)

Année universitaire: 2022/2023





