

Rapport pour le GFPP suite à l'obtention d'une bourse de séjour dans le laboratoire du Pr Ashraf Brick en Israël

Depuis décembre 2021, je mène un projet de thèse axé sur la synthèse de nouvelles conotoxines issues de cônes polynésien et mahorais. Ce travail de doctorat est réalisé au Centre de Recherche Insulaire et Observatoire de l'Environnement (CRIOBE) à l'université de Perpignan sous la direction du Pr. Nicolas Inguibert et Dr Sébastien Dutertre.

Les conotoxines sont des peptides riches en ponts disulfures qui constituent une partie du pool de molécules présent dans le venin des cônes. Ils agissent sur différents types de récepteurs pharmacologiques et peuvent trouver des applications thérapeutiques. La disponibilité du mollusque et la faible teneur en conotoxines dans les venins ne permet pas de les caractériser convenablement afin de révéler tous leurs potentiels. Pour cela après analyse du venin et identification des conopeptides par une approche transcriptomique et protéomique, ces peptides sont synthétisés par voie chimique sur phase solide (SPPS) puis purifiés afin d'obtenir des quantités suffisantes pour les tests biologiques.

Une des difficultés de la synthèse des conotoxines réside dans l'agencement des ponts disulfures, qui sont en partie responsable de leur structure tridimensionnelle capable de cibler spécifiquement des récepteurs pharmacologiques. Le groupe du Professeur Ashraf Brik, basé en Israël, a mis au point une méthode rapide de synthèse de peptides et de protéines pouvant contenir jusqu'à trois ponts disulfures en une seule étape (one pot). C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à cette technique qui me sera utile tout au long de ma thèse.

Afin de rendre mon stage productif, j'avais synthétisé préalablement deux précurseurs linéaires d'alpha-conotoxines (GalA et AdIA) ayant deux ponts disulfures avec des groupements protecteurs acétamidométhyle (Acm), ainsi que trois précurseurs linéaires d'une conotoxine à trois ponts disulfures (AdIIIA), en variant les positions des groupements protecteurs des cystéines. De leur côté, en Israël, le groupe du Professeur Brick avait synthétisé des précurseurs linéaires d'alpha-conotoxines avec le groupement nitrobenzyle (NBn) à la place de l'Acm, car ils avaient constaté que la déprotection du nitrobenzyle avait plus d'avantages que celle du groupement Acm avec la technique qu'ils ont développée.

Dans un premier temps, nous avons commencé par les alpha-conotoxines en testant deux approches différentes pour chacune d'entre elles. La première utilisait un précurseur linéaire avec deux cystéines protégées par des groupements Acm, tandis que la seconde utilisait un groupement NBn. Les deux approches ont été fructueuses, ce qui m'a permis d'obtenir facilement les peptides correctement repliés, puis de les purifier pour obtenir une quantité suffisante en vue des tests biologiques. Ensuite, nous nous sommes intéressés à l'AdIIIA, conotoxine à trois ponts disulfures. Nous avons utilisé trois analogues différents, tous conduisant à la même connectivité des ponts

disulfures (Cys1-4, 2-4, 3-6). Parmi ces trois, seul l'un d'entre eux a conduit à un seul isomère de la conotoxine avec la technique one pot.

Les résultats obtenus durant ce séjour m'ont permis de comparer les résultats que j'avais obtenus avec en repliement oxydatif non dirigé des ponts disulfures, qui pourront confirmer l'obtention du bon peptide correctement replié.

Pendant mon séjour, j'ai appris à mettre en œuvre la technique "one pot" sur différents types de peptides de tailles et de natures différentes. Cela signifie que la technique peut fonctionner avec n'importe quel peptide ou protéine. Cela m'a donné une idée de la stratégie à adopter pour la formation des ponts disulfures, en choisissant judicieusement l'ordre de formation de ces derniers ainsi que le positionnement des groupements protecteurs.

Je tiens à remercier le GFPP de m'avoir accordé une bourse de 500 euros durant mon séjour au sein du laboratoire du Pr Ashraf Brick. Cette expérience a été très enrichissante, remplie de découvertes scientifiques, et m'a permis de vivre une première expérience professionnelle à l'étranger, ce qui sera un fort atout pour mes demandes de postdocs après ma thèse. L'acquisition de cette technique me permettra de concrétiser rapidement la synthèse de mes conotoxines et d'envisager de faire des analogues plus prometteurs dans le but d'améliorer leur activité biologique.

Yazid SOUF

Doctorant, École doctorale 305 Énergie Environnement

Centre de Recherche Insulaire et Observatoire de l'Environnement (CRIOBE)

USR CNRS 3278 , Université de Perpignan Via Domitia