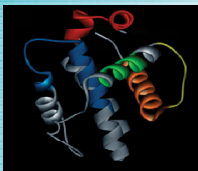


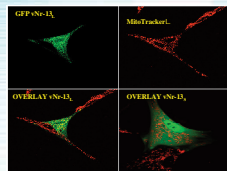
La bioinformatique et les biotechnologies au service de la lutte contre le cancer. Abdel Auouacheria

Evolution des membres de la famille Bcl-2, des protéines importantes en oncologie

- ✓ Régulateurs centraux de l'apoptose, « interrupteurs » vie/mort cellulaire
 - ✓ Soit pro- soit anti-apoptotiques, action à l'interface mitochondrie-cytosol
 - ✓ Séquences divergentes en dehors de boîtes d'homologie « BH »
 - ✓ Impliqués dans de nombreuses pathologies (défaut d'apoptose: cancers).
- (Bonnefoy-Bérard N, Auouacheria A et al. Control of proliferation by Bcl-2 family members. *BBA*, 2004)

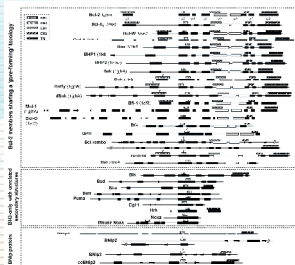


Modélisation de la protéine Nr-13

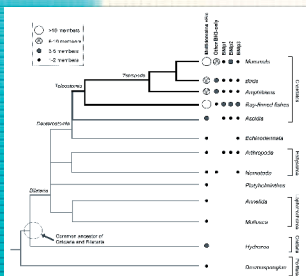


Localisation subcellulaire

Grâce à une approche combinant séquences en aa + analyse structurale + organisation génomique, nous avons défini 3 groupes: les protéines « multidomaines », « BH3-only », et BNip1, 2 et 3, ayant des histoires évolutives différentes (Auouacheria A et al. Phylogenomics of life-or-death switches in multicellular animals: Bcl-2, BH3-only and BNip1 families of apoptotic regulators. *Mol Biol Evol*, 2005).



Structure 2D ou 3D (prédite par modélisation ou réelle) des membres de la famille Bcl-2



Phylogénie des membres de la famille Bcl-2 superposée à la taxonomie générale des Métazoaires

Pour étayer cette hypothèse, nous avons montré que la phylogénie des collagènes fibrillaires, des marqueurs de la multicellularité animale, ressemblait à celle des membres de la famille Bcl-2 (Auouacheria A et al. Invertebrate data predict an early emergence of vertebrate fibrillar collagen clades and an anti-insect model. *J Mol Evol*, 2004).

Des virus à ADN, appartenant à 5 lignages très différents (mastadénovirus, herpesvirus α et γ , iridovirus, avipoxvirus et asfivirus), possèdent un ou plusieurs gènes de la famille Bcl-2. Plusieurs événements indépendants de « piratages » de gènes cellulaires se seraient produits.

L'acquisition d'un gène type Bcl-2 aurait constitué un avantage sélectif majeur pour ces virus. Certains d'entre eux sont associés à des cancers chez l'humain et l'animal.



✓ Clonage de protéines Bcl-2 chez des organismes lointains (porifera, placozoa, ctenophora), et développement de modèles alternatifs d'étude de l'apoptose

✓ Test des résidus conservés hors domaines « BH » De plus, les protéines Bcl-2 virales présentent des adaptations, suggérant un mode d'action différent.

✓ Pour deux membres viraux, baptisés *viral nr-13* (Auouacheria A et al. Characterization of vNr-13, the first alphaherpesvirus gene of the bcl-2 family. *Virology*, 2003) et *viral mcl-1* (Auouacheria A et al. Evolution of viral Bcl-2 family proteins, piracies in series, in preparation), les événements de piratage sont relativement récents, et il est possible de les dater plus précisément.

✓ Etude du module structural Bcl-2/bactériocine et conception rationnelle de modulateurs de l'insertion membranaire (CDD CNRS)

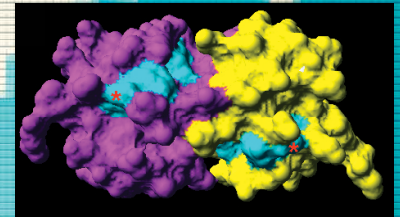
Criblage bioinformatique des altérations génétiques associées aux tumeurs

Les variations génétiques peuvent contribuer au développement du cancer par le biais de deux mécanismes:

- ✓ l'introduction de substitutions non-synonymes dans la séquence en aa des protéines, ce qui peut modifier leur structure et/ou leur activité.
- ✓ une variation dans l'abondance des protéines, souvent suite à une altération du taux d'expression au niveau transcriptionnel. Là encore, des substitutions nucléotidiques mais situées cette fois-ci hors de la séquence codante peuvent être à l'origine des variations dans le dosage génique.

Sur la base de données d'ESTs (Expressed Sequence Tags), nous avons entrepris une série de trois criblages digitaux à l'échelle du génome humain entier.

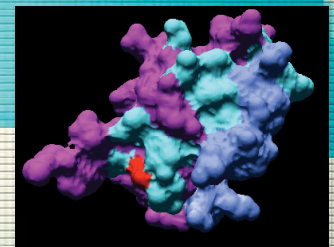
La recherche de 'Single Nuclear Polymorphisms' codants non-synonymes (nsSNPs) associés aux tumeurs. Nous avons découverts ~ 250 nsSNPs significativement associés au phénotype tumoral. Nous avons prédit lesquels pouvaient conduire à une modification de l'activité et/ou de la structure protéique.



Structure de DNCL1/DLC8 et localisation de la mutation G79C

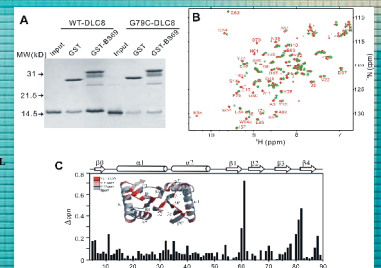
Nous avons caractérisé expérimentalement les effets d'une mutation associée au cancer (G79C) découverte sur la protéine DNCL1 (DLC8) (Auouacheria A et al. In silico whole-genome scanning of cancer-associated nonsynonymous SNPs and molecular characterization of a dynein light chain tumor variant. *Oncogene*, 2005).

La recherche des SNPs non-codants (ncSNPs) associés aux tumeurs. Nous avons découvert ~ 350 ncSNPs affectant les séquences régulatrices situées en 5' et 3' UTR des ARNm. Quatre ncSNPs situés au niveau du gène *SPARC* (secreted protein acidic and rich in cysteine) ont été validés par génotypage (Auouacheria A et al. Bioinformatic screening for tumour-related non-coding polymorphisms and experimental validation of SPARC tumour variants, submitted).



La recherche des gènes dont l'expression est spécifiquement altérée dans les cellules cancéreuses (criblage différentiel in silico): Notre procédure a permis l'identification d'ESTs sur-abondants ou au contraire sous-représentés en condition tumorale. Les gènes spécifiquement exprimés dans les tumeurs (~ 180) sont en cours de validation expérimentale par RT-PCR (Auouacheria A et al. Computational identification and experimental validation of differentially expressed genes between normal and cancer tissues, in preparation).

NORMAL vs. TUMORAL



Caractérisation de la mutation cancéreuse G79C

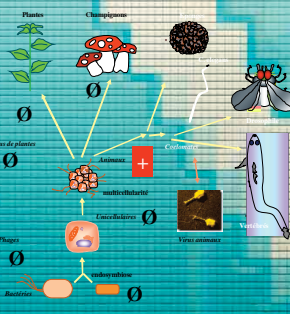
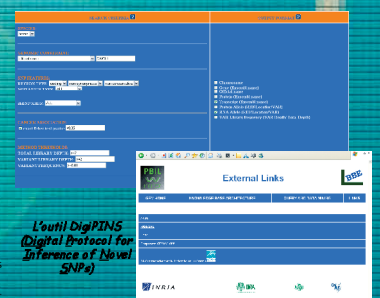


schéma « discursif » positionnant les nœuds critiques de la réponse apoptotique

Nous avons rendu disponible notre plateforme de criblage sous la forme d'une interface accessible via l'Internet. L'utilisateur peut y rechercher des polymorphismes sur des gènes d'intérêt, ou effectuer des tests d'association au cancer (Navratil V, Auouacheria A et al. DigiPIINS: a database for vertebrate exonic SNPs and its application to human cancer association studies, submitted).



http://pbil.univ-lyon1.fr/gen/DigiPIINS/query_DigiPIINS.php

Ces criblages constituent un niveau d'analyse incontournable, mais n'en demeurent pas moins « statiques ». Or, dans la cellule, les réseaux métaboliques et de régulation fonctionnent dans un contexte « dynamique ».

=> Modélisation de l'apoptose dans le cancer du poumon (ACI Apoptose-Nécrose du PCRD5: <http://www.umps.ens-lyon.fr/~biochimie/apoptose/>).

✓ Validations expérimentales (RT-PCR, microarrays, mutagenèse dirigée, tests fonctionnels)

✓ Conception rationnelle de nouveaux médicaments (Ribba B, Auouacheria A et al. A structured-knowledge approach for designing the biological stage of a multi-scale model of cancer growth, in preparation). Le modèle permettra de tester virtuellement l'effet de modulateurs potentiels avant d'entamer des expériences coûteuses en laboratoire.

✓ La flexibilité des systèmes simulés permettra d'incorporer de nouvelles données, ou de coupler le phénomène d'apoptose à d'autres processus (ex: cycle cellulaire).