

Processus physiopathologiques impliquant le récepteur de la prolactine : approches physico-chimiques dynamiques et structurales.

Coordinateur : Vincent Goffin (Inserm, Necker, Paris)

Partenaires : Isabelle Broutin (CNRS, Paris), Patrick England (Pasteur, Paris)

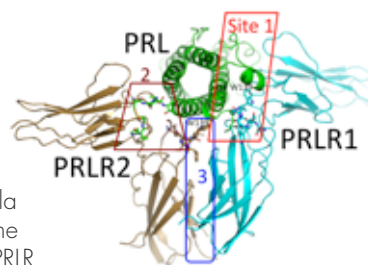
Contexte et objectifs

Le récepteur de la prolactine (PRLR) est impliqué dans la **prolifération tumorale** de deux de ses tissus-cibles principaux : la glande mammaire et la prostate. Notre équipe s'est donc investie de longue date dans le développement d'**antagonistes du PRLR**, molécules actuellement en R&D industrielle. Par ailleurs, nous avons récemment identifié chez des patients présentant des tumeurs mammaires la première **mutation gain-de-fonction** du PRLR: le PRLR-I146L. Le projet avait pour objectif de mettre en œuvre un vaste ensemble de méthodologies physico-chimiques et biologiques pour analyser les caractéristiques dynamiques et structurales du processus d'activation du PRLR, afin de comprendre les bases moléculaires de l'activité constitutive du PRLR-I146L et de l'activité inhibitrice des antagonistes.

Résultats

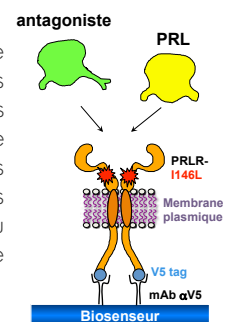
Approches structurales

Nous avons déterminé la Structure cristallographique du complexe ternaire entre la prolactine (PRL) et le domaine extracellulaire dimérisé du PRLR (PRL "affinity-matured": *Broutin et al*, J. Biol. Chem. 2010 ; PRL sauvage : *van Agthoven et al*, J. Mol. Biol 2010). Cette structure a permis d'identifier les 3 sites d'interaction au sein du complexe ligand/récepteur. La structure du PRLR-I146L n'a pu être déterminée car celui-ci s'agrège lors du processus de solubilisation, suggérant un impact de la mutation sur le repliement. Nous avons également enrichi notre banque de données des structures 3D de plusieurs versions d'antagonistes. Enfin, un des objectifs était de déterminer la structure du PRLR entier. **Après de multiples tentatives soldées d'échecs (tests de divers systèmes de production recombinante et de nombreux mutants de PRLR), nous avons réussi à obtenir des résultats encourageants pour une construction particulière, dont l'analyse se poursuit.**



Approches biophysiques

Par résonance des plasmons de surface (SPR), nous avons caractérisé en temps réel les interactions entre plusieurs mutants de PRL et le domaine extracellulaire du PRLR. De plus, nous avons également défini les conditions expérimentales permettant l'analyse du PRLR entier en contexte membranaire. Ce projet sera finalisé en 2011.



Approches cellulaires

Par des approches biochimiques et cellulaires (BN-PAGE, TR-FRET, BRET, etc), nous avons montré que l'activation et l'inactivation du PRLR n'impliquent pas de modification détectable de stoechiométrie ou de distance entre les protomères du PRLR dimérisé (*Tallet et al, en révision*). Nous avons également développé des antagonistes insensibles au pH acide souvent rencontré dans les tumeurs (*Hansen et al, J. Mol. Recog. 2011*). Enfin, nous avons montré que la seule expression du PRLR-I146L dans des cellules tumorales mammaires induisait des modifications phénotypiques drastiques, impliquant notamment des altérations des protéines de structures (cavéoline, protéines d'adhésion) et la perte de leur hormono-dépendance. Cela conduit à des propriétés de croissance et d'invasion (métastases) fortement accrues (*Goffin et al, brevet EP N° N°10305597.6, 2010; Bernichtein et al, en préparation*).

Conclusions et perspectives

Ce projet multidisciplinaire a permis de démontrer que l'(in)activation du PRLR était régie par de subtils changements conformationnels intramoléculaires. Etant donné les effets drastiques induits par le PRLR-I146L dans des cellules tumorales, le développement d'inhibiteurs spécifiques se doit d'être envisagé. Les données structurales et le développement de la méthodologie SPR en contexte membranaire seront des atouts précieux dans une perspective de développement de molécules inhibitrices, par criblage ou autre.

CONTACT :

Vincent.goffin@inserm.fr

