

Analyse par dynamiques moléculaires de 5 types de Calréticuline associée à la thrombocytémie essentielle

Radjasandirane Ragousandirane, de Brevern Alexandre G.

ragousandirane.radjasandirane@etu.u-paris.fr, alexandre.de-brevern@inserm.fr

DSIMB- Bioinformatics team
Université de Paris, INSERM UMR_S 1134, DSIMB, Université de la Réunion
8, rue Maria Helena Vieira da Silva, 75014 Paris, France.

• Introduction

La calréticuline (CALR) est une protéine chaperonne du réticulum endoplasmique (RE) liant le Ca^{2+} . Les mutations CALR (CALRm) représentent 25 à 30% des patients atteints de thrombocytémie essentielle (ET). Les CALRm affectent toujours le 9^{ème} exon de cette protéine. Elles consistent souvent en des suppressions et / ou des insertions, associées à un décalage de 1 paire de base, conduisant à une modification importante du domaine C-terminal. Les CALRm sont censées perdre le motif KDEL, impliqué dans la rétention de cette protéine dans le RE. Les CALRm, alors dimérisées, sont expulsées du RE. Elles se lient au récepteur à la thrombopoïétine, entraînant la prolifération plaquettaire. En reclassifiant les CALRm, nous avons détecté des CALRm particuliers qui ne paraissaient pas pouvoir être impliqués dans l'ET. Nous avons donc analysé 5 types de CALRm ainsi que CALR sauvage -en monomère et en dimère- par dynamique moléculaire pour évaluer les facteurs nécessaires pour la dimérisation.

• Matériels et méthodes

Le domaine C-terminal sauvage incomplet a été complété à l'aide du logiciel de modélisation comparative Modeller. Ensuite, par la même approche, des modèles structuraux 3D de 5 types de CALRm ont été construits, pour le variant ponctuel, le logiciel SCWRL a été utilisé. À partir des monomères, des contraintes spécifiques ont été appliquées (ponts disulfures s'il y avait des Cystéines ou juste contraintes de distance pour les autres). Les simulations de dynamique moléculaire des CALRm ont été réalisées à l'aide du logiciel GROMACS.

• Résultats

Nous avons dans la base de données CALR-ETdb (<https://www.dsimb.inserm.fr/CALR-ET/>, El Jahrani *et al*, *Platelets* 2022), 161 séquences de CALRm qui ont été classifiées en 5 classes plus complexes que les 3 types classiques (I, II et autres). Deux classes n'étaient pas attendues, car sans changement de cadres de lecture et donc sans Cystéine : (i) la classe D très courte, et (ii) la classe E n'ayant que des mutations ponctuelles par rapport à la forme sauvage, et, qui de plus, a conservé le motif de rétention dans le RE. Les simulations de dynamiques moléculaires montrent que CALR sauvage et CALRm classes A, B et C ont des dynamiques très différentes, mais surtout (a) que la classe E et CALR sauvage sont pratiquement équivalentes, (b) que la CALR sauvage ne peut se dimériser,

tout comme CALRm classe D et CALRm classe E, car sans ponts disulfures, les chaînes s'éloignent instantanément, et, (c) que les dimères des classes A, B et C (comprenant les types I et II classiques) ont besoin des ponts disulfures pour rester ensemble, ils ont d'ailleurs des dynamiques distinctes.

• Conclusion

Ces travaux ont mis en avant l'intérêt des analyses bioinformatiques pour avoir une nouvelle vision sur des questions d'importance dans notre utilisation de plus en plus grande des séquençages à haut débit. Clairement, certains CALRm considérés comme associé à une TE ne le sont sans doute pas (classe D et E).

Thème : syndromes myéloprolifératifs non Ph (biologie et clinique)

Mots-clés (imposés) : mégacaryocytes, plaquettes, thrombose.