

# MÉTHODOLOGIE

## PLIF détecte les interactions cellulaires

**Repérer et quantifier facilement l'affinité des interactions entre lipides et protéines au sein des cellules, c'est ce que permet la nouvelle méthode inventée par une équipe de chercheurs toulousains. Objectifs : repérer des anomalies potentielles de fonctionnement et découvrir de nouveaux traitements !**

Une grande variété de fonctions cellulaires sont régulées par une classe minoritaire de lipides présents dans la membrane de nos cellules, les phosphoinositides (PI), qui ont la capacité d'entrer en interaction avec des protéines. Des dysfonctionnements dans ces interactions, dus par exemple à des mutations des enzymes responsables de la production des PI, sont impliqués dans un nombre croissant de maladies parmi lesquelles des cancers, le diabète, des maladies génétiques et infectieuses. Dès lors, pouvoir repérer et détecter avec quels partenaires les PI interagissent est un enjeu majeur pour les chercheurs en quête de nouveaux médicaments. Actuellement, de nombreuses techniques existent mais aucune n'est vraiment satisfaisante car toutes exigent beaucoup de temps et ne

peuvent analyser qu'un petit nombre d'échantillons en parallèle.

Partant de cette constatation, Julien Viaud (☞) et ses collègues de l'équipe dirigée par Bernard Payrastra (☞) et Frédérique Gaits-Iacovoni (☞) à l'Institut des maladies métaboliques et cardiovasculaires, à Toulouse, ont développé une méthode qu'ils ont appelée PLIF pour *Protein Lipid interaction by fluorescence*. Son principe est relativement simple : « Il consiste à immobiliser, sur une surface, une protéine qui est ensuite incubée avec des liposomes (☞) fluorescents porteurs d'un phosphoinositide particulier, explique Julien Viaud. La spécificité de l'interaction lipide-protéine est ensuite mesurée par l'intensité du signal fluorescent. »

*« Cette méthode présente de nombreux avantages : sensible, quantitative et surtout très rapide, »*

fluorescents porteurs d'un phosphoinositide particulier, explique Julien Viaud. La spécificité de l'interaction lipide-protéine est ensuite mesurée par l'intensité du signal fluorescent. »

L'équipe a ainsi pu valider cette méthode en confirmant les spécificités de profils connus entre les phosphoinositides et certains domaines (☞) bien caractérisés de protéines. Déjà, PLIF a permis de mettre en évidence de nouvelles interactions qui, bien que de faible intensité, peuvent avoir une grande pertinence physiologique. C'est le cas notamment pour des membres de la famille

des *sorting nexin*, une classe de protéines impliquée dans le trafic cellulaire (☞). « Cette méthode présente de nombreux avantages : sensible, quantitative et surtout très rapide (moins d'une heure) », ajoute Julien Viaud. Mais la plus remarquable de ses propriétés est la validation de son utilisation pour identifier avec un haut débit des molécules inhibitrices qui ciblent

ces interactions lipide-protéine. Quelles perspectives s'ouvrent aux chercheurs avec cette méthode appelée à remplacer les autres ? « Nous souhaitons créer de nouveaux outils pour l'étude des phosphoinositides ou encore quantifier ces lipides dans des échantillons biologiques, conclut Julien Viaud. Et, bien entendu, l'objectif final est d'identifier des molécules thérapeutiques dans les maladies dues à des interactions lipide-protéine dysfonctionnelles. » ■

Odile Robert

### Liposome

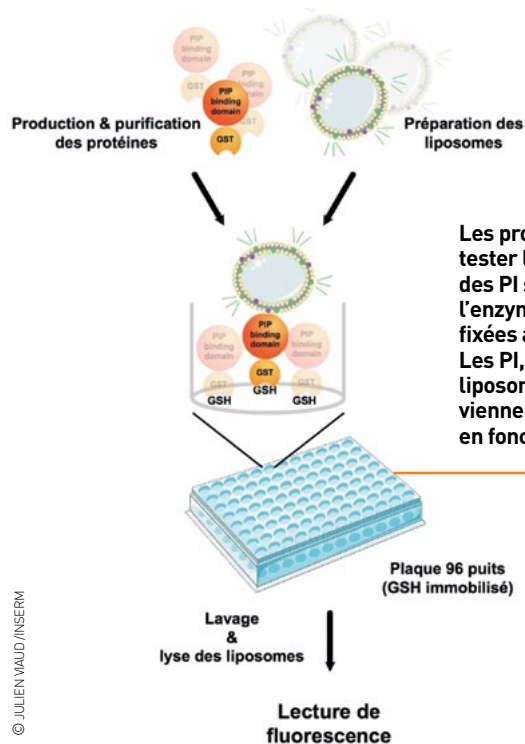
Vésicule artificielle formée d'une bicouche de phospholipides, constituant de base des membranes cellulaires

### Domaine

Partie d'une protéine capable d'une fonction particulière comme une interaction

### Trafic cellulaire

Ensemble des mouvements des molécules à l'intérieur de la cellule destinés à les acheminer sur leur lieu d'action



**Les protéines dont on veut tester l'interaction avec des PI sont étiquetées avec l'enzyme GST pour être fixées au fond des puits. Les PI, inclus dans des liposomes fluorescents, viennent ensuite interagir en fonction de leur affinité.**

Julien Viaud, Bernard Payrastra, Frédérique Gaits-Iacovoni : unité 1048 Inserm - Université Toulouse III-Paul Sabatier, IZMC

L. Ceccato et al. *Sci Signal.*, 29 mars 2016 ; 9 (421) : rs2

© JULIEN VIAUD / INSERM