



République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقاوي – تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie



Mémoire

Présenté par

TSOGBEGAN Kokou Kévin

En vue de l'obtention du

Diplôme de **MASTER**

En Sciences Biologique

Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème

***Inhibiteurs de la fixation des protéines BabA
et SabA aux antigènes Lewis. Cas du
lymphome gastrique***

Soutenu devant le jury :

| | | |
|---------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| Présidente | Mme DENNOUNI-MEDJATI Nouria | Pr Université de Tlemcen |
| Encadreur | Mr. Cherrak Ahmed Sabri | MCA Université de Tlemcen |
| Examinatrice | Mme. SAHI-DALI YUCEF Majda | Pr Université de Tlemcen |

Année universitaire 2021/2022

Abstract

Helicobacter pylori, through its adhesion and colonization mechanisms, is the source of several gastric pathologies including gastric lymphomas. The main proteins involved in these mechanisms are BabA and SabA. The aim of this study was to find molecules likely to inhibit the action of BabA and SabA. It consisted in the study of the molecular docking of 40 sub-structures of Fucoïdan, by a screening carried out upstream followed by a molecular docking. A total of 07 molecules were found to have very good affinities with the two proteins. These molecules also present adequate pharmacokinetic properties to be administered. The study also presents a molecular dynamics simulation phase carried out with a molecule that, according to the results on rmsd, rmsf and Gyrate, shows a great stability in system, both with BabA and SabA.

Key words: *Helicobacter pylori*, BabA, SabA, Fucoïdane, molecular docking, molecular dynamics.

المخلص

المعدية للمفاوية الأورام ذلك في بما المعدة أمراض من العديد مصدر هي ، والاستعمار الالتصاق آليات خلال من ، بيلوري هيليكوباكتر تثبط أن يحتمل جزيئات على العثور هو الدراسة هذه من الهدف كان BabA و SabA هي الآليات هذه في المشاركة الرئيسية البروتينات في إجراؤه يتم فحص خلال من ، Fucoïdan من فرعية بنية 40 ل الجزيئي الالتحام دراسة من يتألف كان BabA و SabA من كل عمل أيضًا الجزيئات هذه تقدم البروتينين مع جدا جيدة صلات لها جزيئات 07 مجموعها ما على العثور تم. الجزيئي بالالتحام متبوعًا المنبع جزيء باستخدام إجراؤها تم التي الجزيئية الديناميكيات محاكاة مرحلة أيضًا الدراسة تقدم. إعطاؤها ليتم كافية دوائية حركية خصائص جزيء و SabA و BabA من كل مع ، النظام في كبيرًا استقرارًا ، Gyrate و rmsf و rmsd على للنتائج وفقًا ، يُظهر

الجزيئية الديناميات ، الجزيئي الالتحام ، فوكويدان ، سابا ، بابا ، بيلوري هيليكوباكتر: الأساسية الكلمات

Résumé

L'*Helicobacter pylori* par ses mécanismes d'adhésion et de colonisation, est à la source de plusieurs pathologies gastriques incluant les lymphomes gastriques. Les principales protéines intervenant dans ces mécanismes sont BabA et SabA. L'étude a pour but de trouver des molécules susceptibles d'inhiber l'action de BabA et SabA. Il a donc consisté dans un premier temps en l'étude de l'amarrage moléculaire de 40 sous structures du Fucoïdane, par un screening réalisé en amont suivi ensuite par un Docking moléculaire. Au total 07 molécules ont été trouvées présentant de très bonnes affinités avec les deux protéines. Ces molécules présentent également des propriétés pharmacocinétiques adéquates pour être administrer. L'étude présente aussi une phase de simulation de dynamique moléculaire effectuée avec une molécule qui, selon les résultats ressortis sur les rmsd, rmsf et Gyrate, montre une grande stabilité en système, tant avec BabA qu'avec SabA.

Mots clés : *Helicobacter pylori*, BabA, SabA, Fucoïdane, Docking moléculaire, dynamique moléculaire.

Introduction

L'*Helicobacter pylori* est reconnu comme agent étiologique de plusieurs maladies gastriques dont les lymphomes gastriques (Herlevic and Morris, 2022). De récentes études montrent une augmentation de l'incidence des lymphomes gastriques induits par *H. Pylori* et suggèrent que ces derniers ne seraient intrinsèquement liés qu'à l'infection par la bactérie (Ishikura et al., 2019). Bien que les mécanismes moléculaires expliquant la survenue du lymphome à la suite de l'infection par *H. pylori* restent incompris, nous savons du moins que l'adhésion et la colonisation sont des étapes primordiales pour une infection réussie (Israel and Peek, 2006; Matos *et al.*, 2021).

L'adhésion et la colonisation sont assurées par des protéines de la membrane externe (OMP) (Zhao et al., 2020). Les OMP les plus étudiées sont l'adhésine de liaison à l'antigène du groupe sanguin (BabA) et l'adhésine de liaison à l'acide sialique (SabA). Ces protéines membranaires interagissent avec les récepteurs type antigènes de Lewis, présents sur la surface des cellules épithéliales de l'hôte, jouant un rôle clé dans le développement des pathologies gastriques persistantes. L'interaction de ces OMPs avec la muqueuse protège tout d'abord la bactérie en évitant son élimination pendant l'excrétion de mucus. Elle permet à la bactérie de se nourrir aux dépens de la cellule hôte et favorise l'administration de toxines bactériennes et d'autres molécules effectrices aux cellules hôtes (Testerman, 2014; Kao, Sheu and Wu, 2016).

BabA, première OMP étudiée, fut découverte en liaison avec les antigènes Lewis de type B (Leb). Bien que pouvant se lier difficilement aux glycanes mono-fucosylés à la surface des cellules épithéliales gastriques, des études montrent une forte affinité, en particulier *in vivo*, de BabA avec l'antigène Leb (Roy et al., 2022). La protéine BabA, codée par le gène *babA*, présente dans sa morphologie deux régions en structure alpha hélicoïdale dénommées régions de la manche et de la tête et une région en structure de feuillet bêta appelée la couronne (Talebi Bezmin Abadi et al., 2013). Les travaux de cristallographie effectués par (Hage et al., 2015) nous permettent de voir que cette interaction BabA-Leb est médiée par des liaisons hydrogènes et met en jeu 8 acides aminés différents situés au niveau de la couronne. Le complexe d'adhésion BabA-Leb est un initiateur de l'infection par *H. Pylori* et a été désigné par des études récentes comme étant à la source de plusieurs mécanismes de pathogénicité. Mis à part son implication dans l'efficacité du processus de translocation de la protéine cytotoxique CagA (Ishijima et al., 2011), ce complexe BabA-Leb est capable d'induire des cassures d'ADN double brin à l'intérieur de la cellule hôte (Toller et al., 2011). Les connaissances sur les mécanismes moléculaires aboutissant aux cassures sont toujours limitées à nos jours. Cependant des souches de *H. pylori* dont le gène *babA2* est muté ont montré une incapacité à induire des ruptures de l'ADN tandis que l'on dénote des mécanismes de réparation de l'ADN chez la cellule hôte présentant le complexe d'adhésion. Il serait intéressant de mentionner que l'antigène Lewis de type B est principalement retrouvé à la surface de cellule saine de la muqueuse et de l'épithélium gastrique. L'infection par *H. pylori* est associée au remplacement des antigènes de Lewis non sialylés comme le Leb par des antigènes Lewis sialylés.

La protéine SabA est très importante pour une colonisation persistante de l'environnement gastrique vu sa capacité à se lier aux glycanes sialylés que l'on retrouve dans le tissu infecté (Mahdavi et al., 2002). SabA présente une grande similarité morphologique avec BabA à l'exception qu'elle ne possède pas de couronne. Au-delà de sa fonction première d'adhésine, il a été reporté que SabA est essentiel pour l'activation nonopsonique des neutrophiles auxquelles elle se lie pour induire des dommages et un stress oxydatif dans l'environnement gastrique (Unemo et al., 2005; Yamaoka, 2008). Ces deux adhésines BabA et SabA présentent une synergie remarquable du point de vue de la complémentarité de leur fonction (Doohan et al., 2021). Elles assurent efficacement la colonisation de l'estomac en dépit des changements morphologiques et fonctionnels.

En vue de trouver des mesures préventives contre les lymphomes gastriques et en même temps contre les maladies gastriques associées à l'infection par le *H. Pylori*, il serait intéressant de cibler et d'inhiber l'action combinée de BabA et de SabA. Très peu d'études ont été faites sur le sujet et il existe des travaux in vitro proposant des molécules naturelles extraites de plantes qui présentent des propriétés antiadhésives contre le *H. Pylori* (Messing et al., 2014; Gottesmann et al., 2020). Les travaux de Bo-Rui Chen et al publiés en janvier 2022 viennent confirmer les propriétés antiadhésives du Fucoïdane (Chua et al., 2015; Chen et al., 2022). Le Fucoïdane est un polysaccharide sulfaté complexe dérivé d'algue marine comestible : le *Sargassum hemiphyllum*. Le Fucoïdane est connu pour ses multiples vertus. Il possède une forte activité anti-cancéreuse, une activité anti-oxydative et bien d'autres (Luthuli et al., 2019). Il est commercialisé sur le marché comme un supplément alimentaire sous forme de gélules.

Notre travail consiste à trouver à partir des sous-structures du Fucoïdane une molécule susceptible d'inhiber à la fois le BabA et le SabA, et qui présente les mêmes vertus que le Fucoïdane.

Matériels et Méthodes

Les résultats des travaux de Hage et al., (2015) ont permis d'aboutir à la structure cristallisée de la molécule BabA. Ces résultats présentent une superposition des structures de BabA et SabA sous forme d'étude comparative (figure 1). Ils montrent de même l'interaction de la protéine BabA avec son ligand l'antigène Lewis (figure 1).

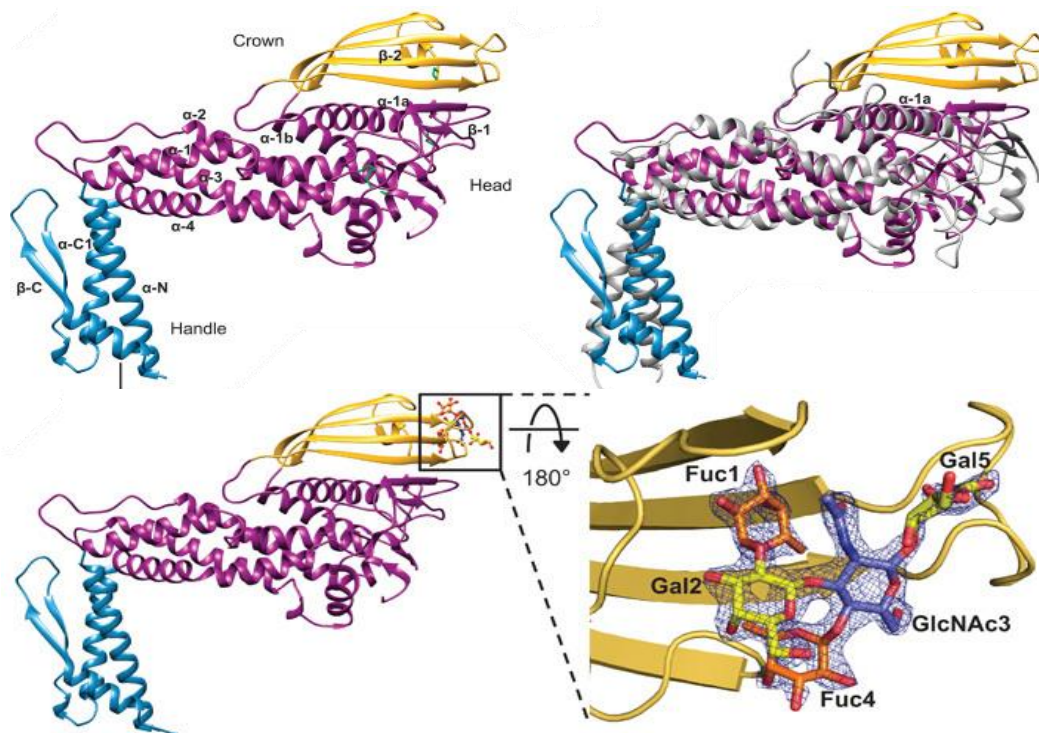


Figure 01 : Structure comparatives de BabA et SabA et structure de l'antigène Lewis en liaison avec BabA (Hage et al., 2015)

Préparation des macromolécules :

Les structures tridimensionnelles des protéines d'adhésion BabA et SabA de l'*Helicobacter Pylori* utilisées dans cette étude, ont été téléchargées à partir de la base de données PDB (Protein Data Bank). La protéine BabA (identifiant PDB : 4ZH0) fut cristallisée à une résolution de 1.91Å et ne présentait pas de mutation. La protéine SabA (identifiant PDB : 4O5J) quant à elle fut cristallisée à une résolution de 2.20Å et ne présentait également aucune mutation.

Les protéines ainsi téléchargées ont été préparées en utilisant le logiciel UCSF Chiméra (Pettersen et al., 2004) où les résidus non standards et les molécules d'eau sont éliminés. L'exécution de la commande DockPrep a servi à ajouter des atomes d'hydrogène et des charges aux protéines BabA et SabA, les préparant ainsi à l'étape de l'amarrage moléculaire.

Préparation des molécules ligands :

Grâce aux travaux de Chen et al., (2022), le Fucoïdane a été repéré comme une molécule excellente pour inhiber la protéine BabA. La structure de la molécule (Fucoïdane) de poids moléculaire 256.28g/mol a été retrouvée dans la base de données Pubchem (CID 129532628). Sur cette base de données, la recherche a été faite sur les sous-structures du Fucoïdane qui ont un poids moléculaire inférieur à 756g/mol. Un nombre de 40 molécules sous-structures a été obtenu et les structures de ces molécules ont été téléchargées sous format SDF.

La préparation des molécules ainsi téléchargées a été réalisée par l'outil Open Babel intégré au logiciel Pyrx. L'outil a permis de traiter les molécules, de minimiser leurs énergies et de les enregistrer sous format pdbqt

Amarrage moléculaire :

L'amarrage moléculaire consiste à étudier l'interaction entre la protéine et son ligand, quantifiée par le degré d'affinité. Dans un premier temps un screening a été réalisé sur Pyrx : la protéine BabA a été mise en simulation avec les 40 molécules préparées en vue de déterminer les meilleures interactions possibles. Par la suite, les molécules impliquées dans les sept meilleures interactions ont été dockées une à une avec la protéine BabA pour confirmer leurs énergies de liaison puis avec la protéine SabA. Cette étape de Docking moléculaire a été réalisée sur le logiciel UCSF Chimera à l'aide de l'outil Autodock vina (Trott and Olson, 2009) qui y est intégré.

Interactions et paramètres pharmacocinétiques :

Après chaque Docking moléculaire réalisé avec les protéines BabA ou SabA, les résultats des meilleures poses sont enregistrés (pose présentant la meilleure affinité). Les complexes formés ont été traités dans le logiciel Biovia Discovery afin de ressortir, sous forme de diagramme 2D, les différentes liaisons du ligand avec le site actif de la protéine et les acides aminés impliqués dans ces liaisons.

Pour vérifier le respect de la règle de Lipinski, des informations sur les propriétés pharmacocinétiques des molécules dockées ont été recueillies sur le site de SwissADME

Dynamique moléculaire :

Des simulations de dynamique moléculaire ont été effectuées pour étudier plus en profondeur les interactions de BabA puis de SabA avec une même molécule. La dynamique s'est effectuée au moyen du logiciel GROMACS (Abraham et al., 2015; Kutzner et al., 2019) installé sur un système d'exploitation linux. Pour préparer la structure topologique des deux protéines, l'outil pdb2gmx a été utilisé et en choisissant le champ de force CHARMM36. Un milieu triclinique a été utilisé pour effectuer la solvataion des protéines, réalisée au moyen du modèle de solvant TIP3, et l'algorithme du nom de Steepest descent algorithme a servi à réduire l'énergie des systèmes (Benson and Daggett, 2012). Pour neutraliser nos systèmes, 4 ions de chlore (Cl⁻) a été ajouté au système dans le cas du BabA, et 1 pour SabA. Les bords des systèmes sont séparés des atomes protéiques d'un écart minimum de 1.0Å

Il a fallu des températures correspondant à 300 K et une pression totale de 1 bar pour stabiliser les systèmes. Des simulations de dynamique moléculaire de 30 ns chacune ont été appliquées, dans un premier temps aux protéines seules, puis aux systèmes formés de protéines en complexe avec la molécule, avec des étapes de 2 fs. Pour finir, les outils gmx rms et gmx rmsf ont été utilisés pour mesurer la déviation quadratique moyenne (RMSD) et les fluctuations de la moyenne quadratique (RMSF) des protéines et complexes. De même, l'outil gmx hbond et l'outil gmx gyrate ont été utilisés afin d'analyser respectivement les liaisons hydrogène et le rayon de giration. La superposition des résultats de rmsd, rmsf et de gyrate et même l'impression des graphiques ont été faites au moyen du logiciel Grace.

Résultats et discussions :

L'amarrage moléculaire

Au total 40 structures de molécules recueillies sur pubchem ont été utilisées pour l'étude de l'amarrage moléculaire. L'étape de screening sur pyrx a permis de trier parmi les 40 structures et de garder sept molécules. Pour finir ces sept molécules ont été retenues pour raffiner le Docking moléculaire sur Chimera. Les détails sur les sept (07) molécules et leurs degrés d'affinité (ΔG) sont reportés dans le tableau 01.

Tableau 01 : résultats exprimés en ΔG des Docking effectués avec les 07 meilleures molécules sur BabA et SabA

| <i>Composé</i> | <i>Masse Molaire (g/mol)</i> | <i>ΔG(Kcal/mol) sur BabA</i> | <i>ΔG (Kcal/mol) sur SabA</i> |
|-----------------|------------------------------|---|--|
| 58076570 | 600.55 | -8.7 | -8 |
| 136454428 | 602.56 | -8.5 | -8.7 |
| 58076566 | 600.55 | -8.4 | -9 |
| 121263286 | 496.46 | -7.1 | -7.2 |
| 59217645 | 577.51 | -7.1 | -8.5 |
| 140800576 | 494.45 | -7 | -7.3 |
| 130264866 | 594.45 | -7 | -6.3 |
| <i>Fucoïdan</i> | 256.27 | -5.6 | -6.3 |

Le ΔG est un indice de stabilité de la liaison formée entre le récepteur et le ligand ; il reflète le degré d'affinité. Comparées à la molécule de base (le Fucoïdane) dont le ΔG est de -5.6, les sept (07) molécules qui ont passé l'étape de Docking présentent des ΔG bien inférieurs. Ces résultats montrent que nos molécules ont plus d'affinité avec les protéines BabA et SabA que le Fucoïdane. Les trois (03) premières molécules à savoir SCHEMBL10013311(CID : 58076570), SCHEMBL10041583(CID : 136454428) et SCHEMBL10013299(CID : 58076566) ont de très bons degrés d'affinité tant avec le BabA qu'avec le SabA, et il serait intéressant de les étudier bien en profondeur.

Les informations pharmacocinétiques sur des sept molécules retenues sont représentées dans le tableau 02

Tableau 02 : propriétés pharmacocinétiques des 07 meilleures molécules suivant les caractéristiques de la loi de Lipinsky

Parametres Pharmacocinétiques

| <i>Composés</i> | LogP | M.W | CSP3 | WS | Weber | |
|------------------|-------------|------------|-------------|-----------|--------------|---------------|
| | | | | | PSA | N. Rot |
| <i>58076570</i> | 1.74 | 600.55 | 0.25 | -4.72 | 210.80Å | 5 |
| <i>136454428</i> | 0.42 | 602.56 | 0.32 | -3.83 | 210.80Å | 5 |
| <i>58076566</i> | 1.74 | 600.55 | 0.25 | -4.72 | 210.80Å | 5 |
| <i>121263286</i> | -3.02 | 496.46 | 1.00 | -0.49 | 230.57Å | 8 |
| <i>59217645</i> | -4.58 | 577.51 | 0.92 | 0.12 | 324.19Å | 10 |
| <i>140800576</i> | -3.57 | 494.45 | 1.00 | -0.13 | 236.23Å | 8 |
| <i>130264866</i> | -4.95 | 594.45 | 1.00 | 0.32 | 313.55Å | 11 |
| <i>Fucoidan</i> | -0.98 | 256.27 | 1.00 | -0.61 | 110.67Å | 3 |

Les trois premières molécules présentent des propriétés pharmacocinétiques pratiquement identiques et donc le même radar (figure 2). Elles ont, mise a part une polarité et un poids moléculaire élevés mais acceptable, des propriétés convenables pour être commercialisées comme médicaments.

La Figure 03 montre les structures des trois molécules ayant les meilleurs degrés d'affinité avec les protéines BabA et SabA. Ce sont toutes des molécules sulfatées présentant une très grande similarité. SCHEMBL10041583 ne diffère de SCHEMBL10013311 que par un noyau benzénique et SCHEMBL10013299 ne diffère de SCHEMBL10013311 que par sa conformation spatiale.



Figure 03 : Radar de biodisponibilité des 03 meilleures molécules dockées

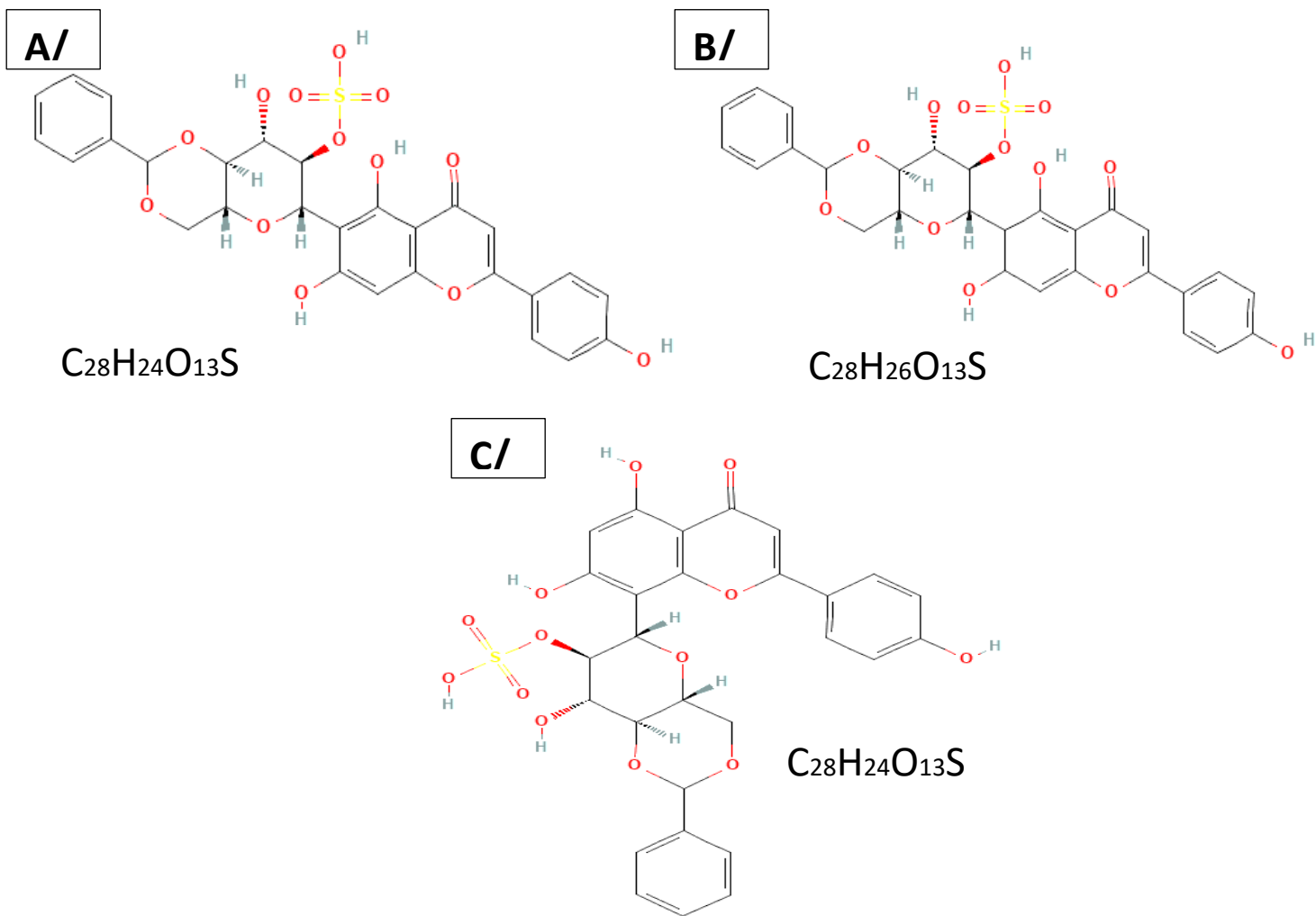


Figure 03 : Structure en 2D des 03 meilleures molécules dockées : A/ SCHEMBL10013311 (CID : 58076570), B/ SCHEMBL10041583 (CID : 136454428), C/ SCHEMBL10013299 (CID : 58076566)

Les interactions protéines ligands ont été étudiées par la suite. Les meilleures molécules dans leurs meilleures positions en liaison avec les protéines BabA et SabA ont été capturées au moyen du logiciel Biovia Discovery. La figure 04 présente ces interactions et la figure 05 montre sous forme de Diagramme 2D les différentes liaisons formées entre molécules ligands et protéines récepteurs.

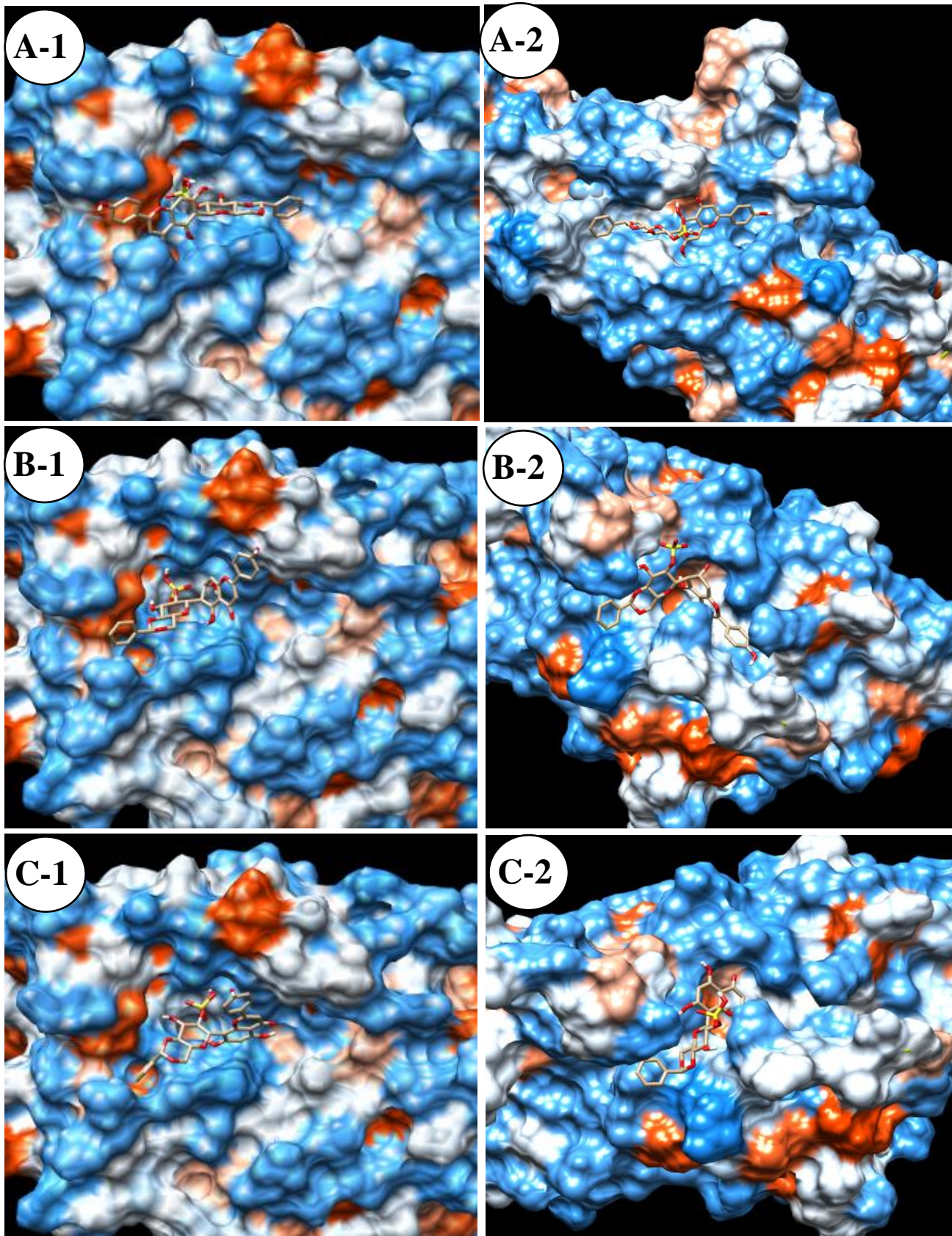


Figure 04: Images des interactions protéines-ligands des 03 meilleures molécules dockées : A/ SCHEMBL10013311 (CID : 58076570) avec BabA(A1) et avec SabA(A2), B/ SCHEMBL10041583 (CID : 136454428) avec BabA(B1) et avec SabA(B2), C/ SCHEMBL10013299(CID : 58076566) avec BabA(C1) et avec SabA(C2)

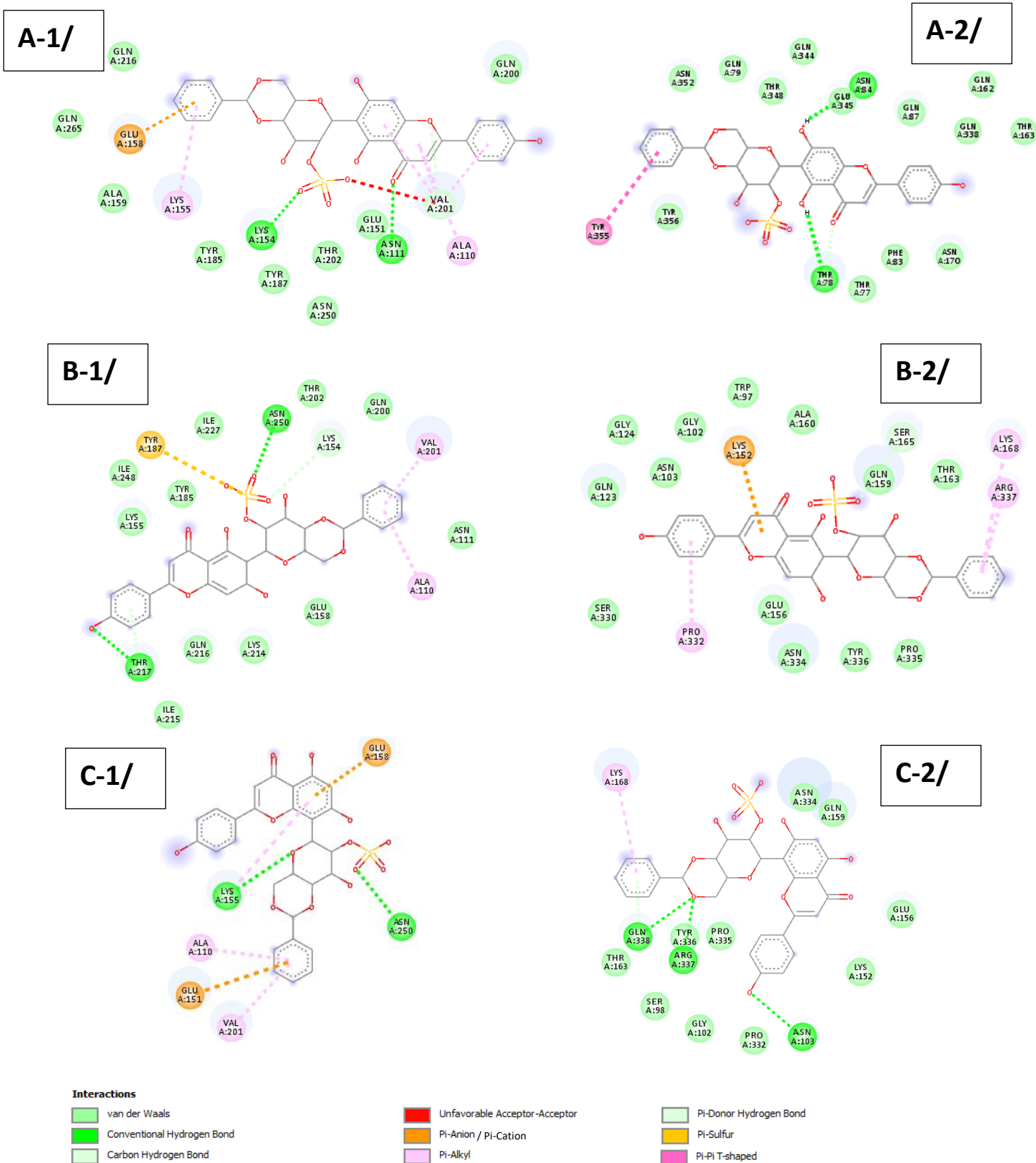


Figure 05 : Diagrammes 2D des interactions protéines-ligands des 03 meilleures molécules dockées : A/ SCHEMBL10013311 (CID : 58076570) avec BabA(A1) et avec SabA(A2), B/ SCHEMBL10041583 (CID : 136454428) avec BabA(B1) et avec SabA(B2), C/ SCHEMBL10013299 (CID : 58076566) avec BabA(C1) et avec SabA(C2)

Tableau 03 : les liaisons des interactions des 03 meilleures molécules avec BabA et SabA

| Composés | Type de liaisons | Les acides aminés impliqués | |
|-----------|--------------------------------|--|--|
| | | Dans l'interaction avec BabA | Dans l'interaction avec SabA |
| 58076570 | Van Der Waals | (GLN A216); (GLN A200); (GLN A265); (ALA A159); (TYR A185); (TYR A187); (THR A202); (ASN A250); (GLU A151) | (ASN A352); (GLN A79); (THR A348); (GLN A344); (GLN A87); (GLN A162); (GLN A338); (THR A163); (GLU A345); (ASN A170); (PHE A83); (THR A77); (TYR A356) |
| | Conventional HB | (LYS A154); (ASN A111) | (THR A78); (ASN A84) |
| | Carbon HB | (VAL A201) | (THR A78) |
| | Unfavourable Acceptor Acceptor | (VAL A201) | — |
| | Pi-Anion | (GLU A158) | — |
| | Pi-Alkyl | (LYS A155); (ALA A110); (VAL A201) | — |
| | Pi-Pi T-shaped | — | (TYR A355) |
| 136454428 | Van Der Waals | (GLN A216); (GLN A200); (THR A202); (ILE A227); (ILE A248); (TYR A185); (LYS A155); (ILE A215); (LYS A214); (GLU A158); (ASN A111) | (GLN A123); (GLY A124); (ASN A103); (GLY A102); (TRP A97); (ALA A160); (GLN A159); (THR A163); (PRO A335); (TYR A336); (GLU A156); (SER A330) |
| | Conventional HB | (ASN A250); (THR A217) | — |
| | Carbon HB | (LYS A154) | (SER A165) |
| | Pi-Donor HB | (THR A217) | — |
| | Pi-Sulfur | (TYR A187) | — |
| | Pi-Alkyl | (VAL A201); (ALA A110) | (PRO A332); (LYS A168); (ARG A337) |
| | Pi-Cation | — | (LYS A152) |
| 58076566 | Van Der Waals | — | (GLY A102); (GLN A159); (THR A163); (PRO A335); (TYR A336); (GLU A156); (SER A98); (PRO A332); (LYS A152); (ASN A334) |
| | Conventional HB | (ASN A250); (LYS A155) | (ASN A103); (ARG A337); (GLN A338) |
| | Pi-Anion | (GLU A158) | — |
| | Pi-Alkyl | (LYS A155); (ALA A110); (VAL A201) | (LYS A168) |
| | Pi-Donor HB | — | (GLN A338) |

(HB = Hydrogen Bond : Liaisons hydrogène)

Les différentes liaisons contractées par les trois molécules ont été recueillies dans le tableau 03 : pour la première molécule SCHEMBL10013311(CID : 58076570), on dénote plusieurs liaisons Van Der Walls et 03 liaisons hydrogène avec BabA et 03 liaisons hydrogène avec SabA. Avec la seconde molécule SCHEMBL10041583(CID : 136454428) les liaisons Van Der Wall sont aussi nombreuses, en revanche la molécule présente 03 liaisons hydrogène avec BabA et seulement une seule liaison hydrogène avec SabA. Quant à la troisième molécule SCHEMBL10013299(CID : 58076566), elle ne présente aucune liaison Van Der Walls avec BabA mais plusieurs avec SabA. Elle présente 02 liaisons hydrogène avec BabA et 04 liaisons hydrogène avec SabA dont une liaison avec un noyau benzénique.

La dynamique moléculaire :

De ce que nous rapportent les étapes de Docking et l'étude des interactions, il a nous a paru intéressant de garder la première molécule SCHEMBL10013311(CID : 58076570) pour l'étape de simulation en vue d'étudier en profondeur son interaction avec les deux protéines BabA et SabA. En effet il est intéressant de réaliser des simulations de dynamique moléculaire, si l'on veut obtenir des données dynamiques relatives au système dans un cadre spatial atomique. Cette méthode est virtuelle, elle se fait in-silico. Ici il a été réalisé une dynamique moléculaire sur notre molécule d'intérêt.

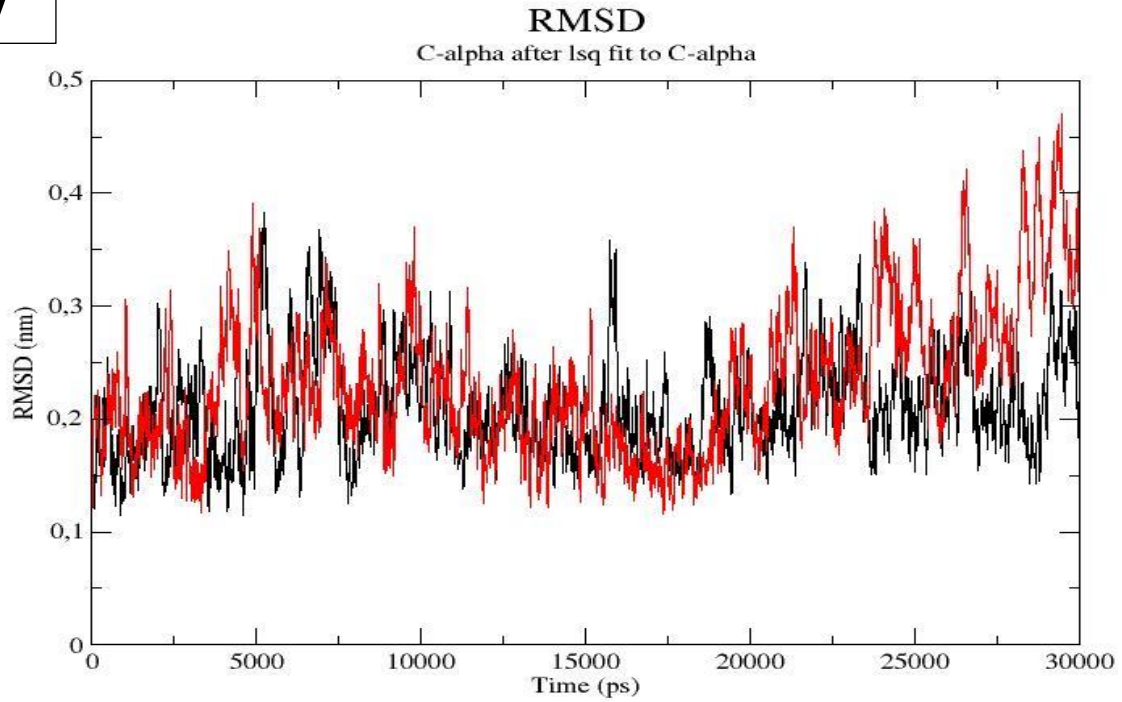
Le graphe de RMSD (Root-Mean-Square Deviation) permet de suivre et de se prononcer sur la stabilité du complexe (figure 06)

Pour l'interaction avec BabA, le complexe (Fig. 6A) présente un RMSD tout à fait stable. De 0 jusqu'à 20ns la stabilité est dénotée avec une courbe qui varie autour de 0.2nm. A partir de 20ns la courbe exprime très probablement un changement de conformation, ce qui est représenté par une augmentation du pic. Dans le cas de l'interaction avec SabA, le complexe (Fig. 6B) présente une stabilité tout au long de la simulation autour de 0.25nm. Les RMSD ici montrent des systèmes tout à fait stables

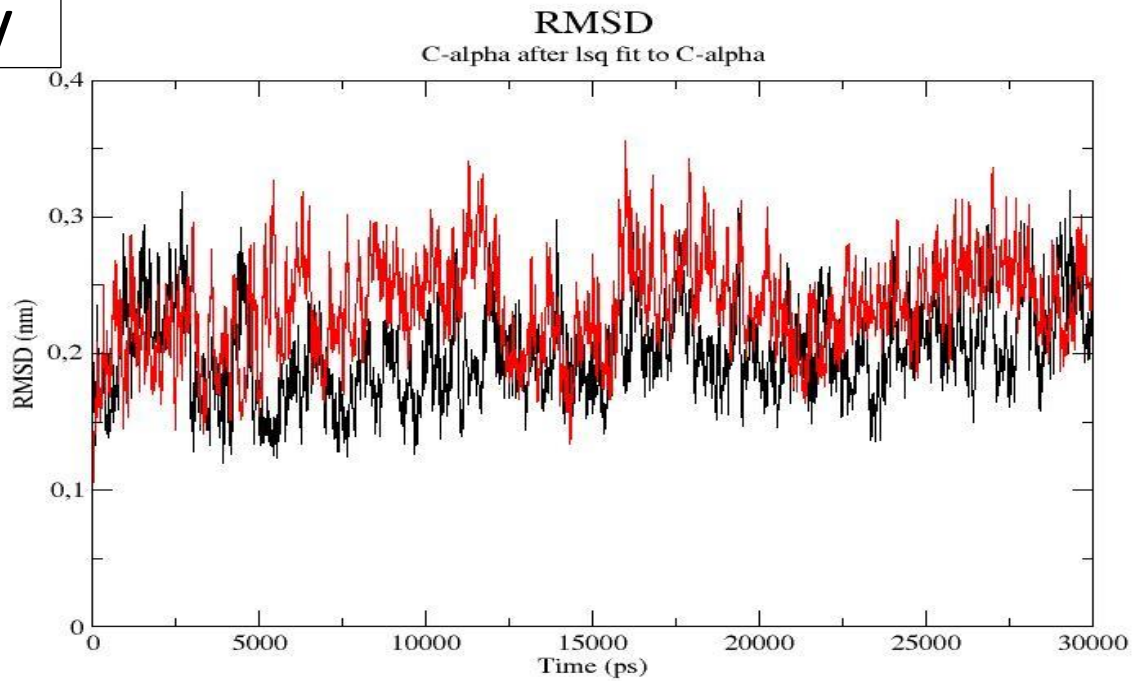
Les fluctuations et la flexibilité structurale des résidus ont été représentées par le graphe du RMSF (Root-Mean-Square Fluctuation) (figure 07).

Les tracés de RMSF viennent compléter les résultats du RMSD sur la stabilité des complexes. Une instabilité est soit due à la flexibilité ou aux liaisons instables. Il en résulte le plus souvent des fluctuations élevées sur le graphe. Pour le complexe BabA-ligand (Fig. 7A), les fluctuations sont très faibles et sont similaires entre le complexe et la protéine seule. De même pour le complexe SabA-ligand (Fig. 7B), où le système est stable avec très peu de fluctuations sauf une fluctuation importante retrouvée au niveau du résidu 115. Les résultats du RMSF sont donc bons et expriment une stabilité des deux systèmes étudiés.

A/

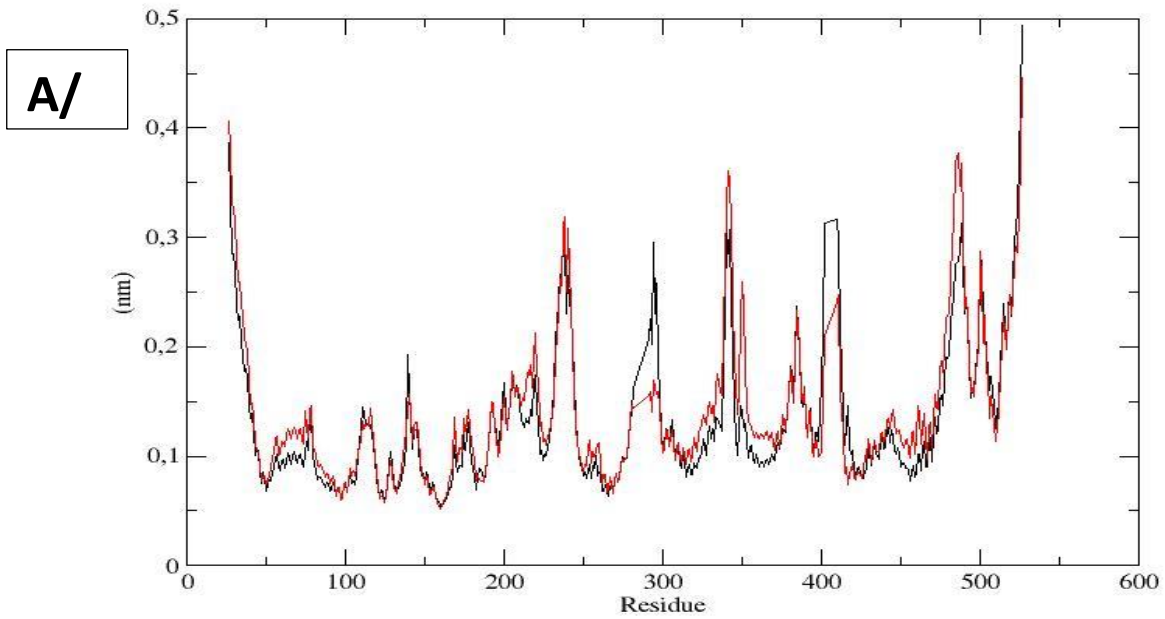


B/

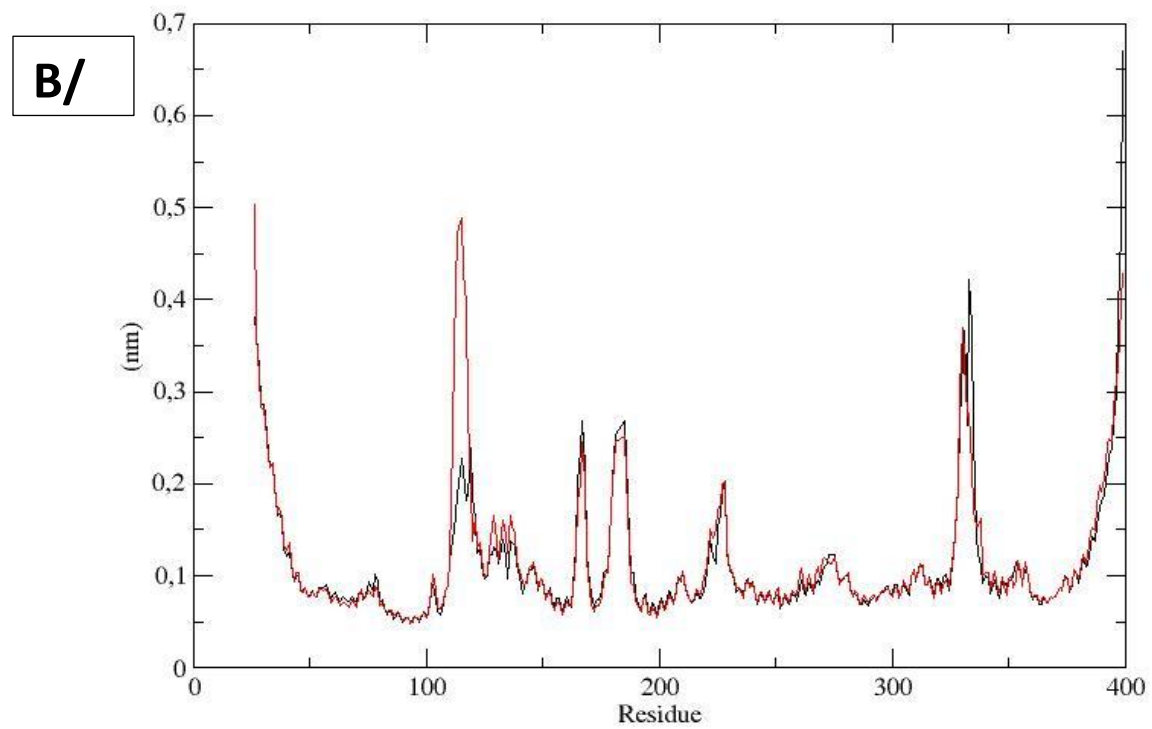


*Figure 06 : RMSD des systèmes : A/ système du complexe BabA-ligand (en rouge) et BabA seul (en Noir)
B/ système du complexe SabA-ligand (en rouge) et SabA seul (en Noir)*

RMS fluctuation



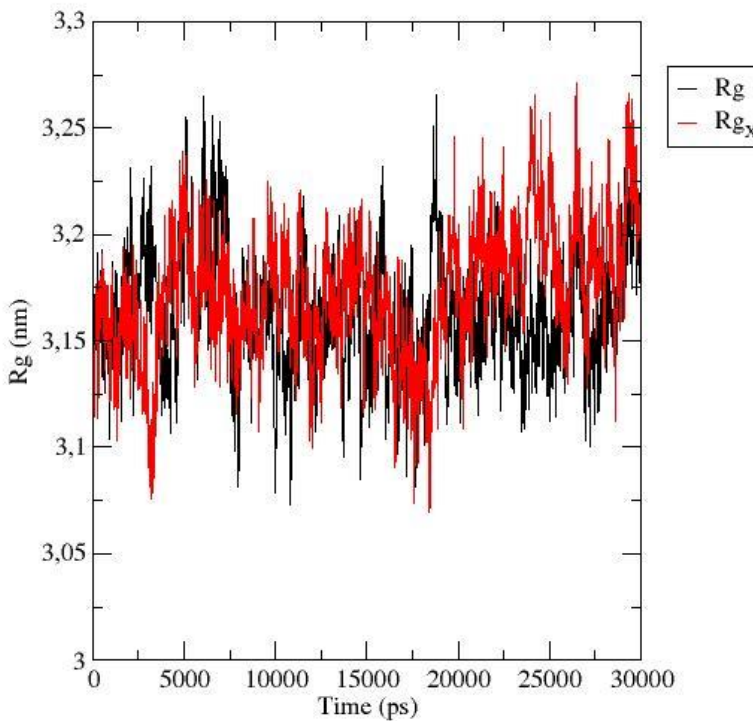
RMS fluctuation



*Figure 07 : RMSF des systèmes : A/ système du complexe BabA-ligand (en rouge) et BabA seul (en Noir)
B/ système du complexe SabA-ligand (en rouge) et SabA seul (en Noir)*

En ce qui concerne la compacité du système, le Rayon de giration (R_g) tracé en fonction du temps est le paramètre approprié. Quand le R_g est élevé, cela signifie que le système n'est pas assez compact et quand le R_g est faible, le système est bien compact ; Il en résulte une grande stabilité du système. La figure 08 nous montre des courbes plus ou moins identiques dans les deux systèmes. Pour l'interaction avec BabA, les rayons de giration sont compris entre 3.075 et 3.275nm, tandis que, pour l'interaction avec SabA, les rayons sont compris entre 2.75 et 2.975nm. Le peu de différence retrouvée dans les graphes confirme la stabilité des systèmes, avec un léger avantage pour le système SabA.

A/ Radius of gyration (total and around axes)



B/ Radius of gyration (total and around axes)

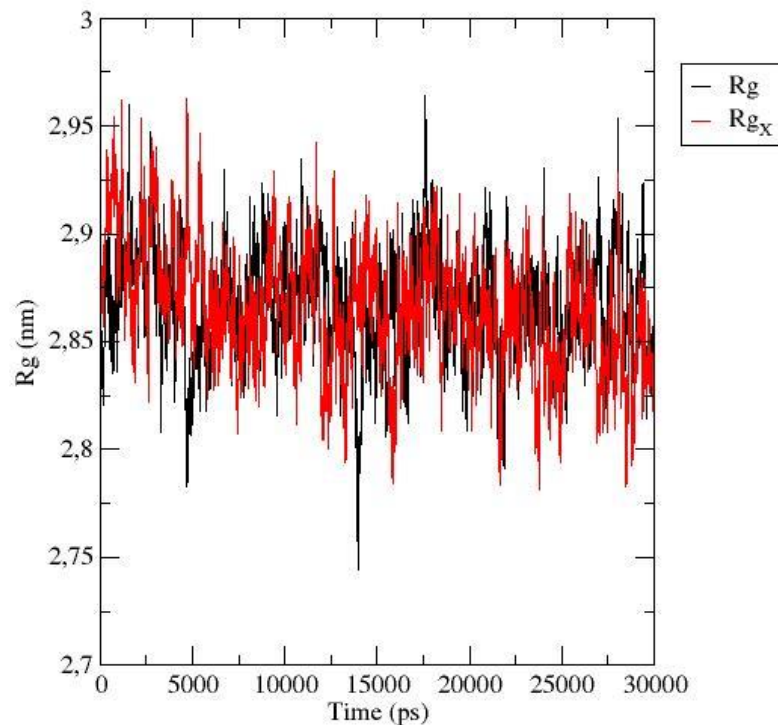


Figure 08 : Rayon de giration des systèmes : A/ système du complexe BabA-ligand (en rouge) et BabA seul (en Noir) B/ système du complexe SabA-ligand (en rouge) et SabA seul (en Noir)

Les liaisons hydrogène sont importantes dans la formation des complexes, en procurant la force de liaison entre les ligands et les protéines. Le graphe du complexe BabA-ligand (figure 9A) présente pas mal de liaisons hydrogène au départ, le nombre étant compris entre 0 et 3, et le nombre diminue en fonction du temps. Ce résultat peut nous permettre de dire que les liaisons hydrogène sont à la base de la stabilité

observée au début du graphe du RMSD. Le graphe de complexe SabA -ligand (figure 9B) présente très peu de liaisons hydrogène au départ, et, vers la fin, des liaisons se forment. Le nombre est compris entre 1 et 2, ceci pourrait expliquer le manque de stabilité au départ sur le graphe de RMSD qui se stabilise vers la fin. Le reste des liaisons impliquées dans ces interactions sont donc de type hydrophobe. Ces liaisons procurent la force pour le maintien des complexes

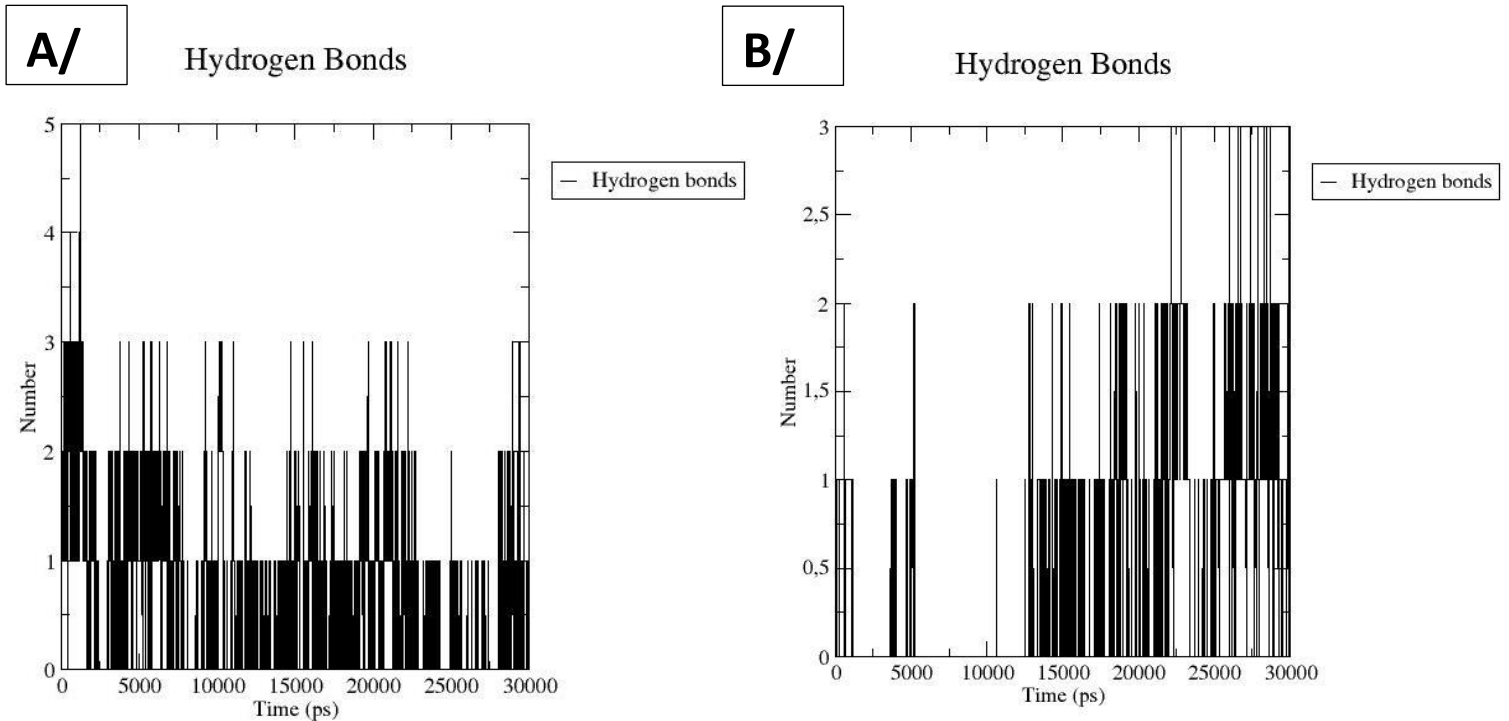


Figure 09 : Graphes des liaisons hydrogène des systèmes : A/ système du complexe BabA-ligand (en rouge) et BabA seul (en Noir) B/ système du complexe SabA-ligand (en rouge) et SabA seul (en Noir)

Dans l'ensemble, les retours de cette étude suggèrent que les protéines adhésines BabA et SabA en complexe avec la molécule SCHEMBL10013311(CID : 58076570) présentent de très bonnes liaisons expliquant cette grande affinité et sont stables pendant les simulations de dynamique moléculaire effectuées. Cette molécule est bien placée, vu les résultats de cette étude, pour suivre des études plus poussées in vitro ou in vivo afin d'être administrée contre les infections de H. Pylori.

Conclusion :

Le lymphome gastrique, de même que de nombreuses maladies gastriques présentes de nos jours, peut être évité ou éradiqué, juste en inhibant les infections de l'estomac par le H. Pylori. La force de cette bactérie réside dans son habilité à s'adhérer et à coloniser l'estomac humain, malgré les conditions difficiles. Son inhibition serait donc efficace, si elle consistait à bloquer l'action des protéines à la base de cette adhérence et de cette colonisation.

La molécule SCHEMBL10013311(CID : 58076570), une sous-structure du Fucoïdane, a présenté des propriétés intéressantes à savoir sa grande solubilité, sa flexibilité et sa saturation. Elle a une très grande affinité, tant avec le BabA qu'avec le SabA. Elle forme avec ces derniers des complexes compacts, stables pendant la dynamique moléculaire et présentant pratiquement pas de fluctuations. Cette molécule synthétisée peut être proposée pour être administrée dans les cas d'infection par H Pylori. Il serait vraiment intéressant de pousser les études sur cette molécule soit in vitro ou in vivo.

Références:

1. Benson NC, Daggett V. A comparison of multiscale methods for the analysis of molecular dynamics simulations. *J Phys Chem B*. 26 juill 2012;116(29):8722-31.
2. Matos R, Amorim I, Magalhães A, Haesebrouck F, Gärtner F, Reis CA. Adhesion of Helicobacter Species to the Human Gastric Mucosa: A Deep Look into Glycans Role. *Front Mol Biosci*. 7 mai 2021;8:656439.
3. Messing J, Thöle C, Niehues M, Shevtsova A, Glocker E, Borén T, et al. Antiadhesive properties of Abelmoschus esculentus (Okra) immature fruit extract against Helicobacter pylori adhesion. *PLoS One*. 2014;9(1):e84836.
4. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem*. 2009;NA-NA.
5. Gottesmann M, Paraskevopoulou V, Mohammed A, Falcone FH, Hensel A. BabA and LPS inhibitors against Helicobacter pylori: pectins and pectin-like rhamnogalacturonans as adhesion blockers. *Appl Microbiol Biotechnol*. janv 2020;104(1):351-63.
6. Ishijima N, Suzuki M, Ashida H, Ichikawa Y, Kanegae Y, Saito I, et al. BabA-mediated Adherence Is a Potentiator of the Helicobacter pylori Type IV Secretion System Activity. *Journal of Biological Chemistry*. juill 2011;286(28):25256-64.
7. Testerman TL. Beyond the stomach: An updated view of Helicobacter pylori pathogenesis, diagnosis, and treatment. *WJG*. 2014;20(36):12781.
8. Toller IM, Neelsen KJ, Steger M, Hartung ML, Hottiger MO, Stucki M, et al. Carcinogenic bacterial pathogen Helicobacter pylori triggers DNA double-strand breaks and a DNA damage response in its host cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 6 sept 2011;108(36):14944-9.
9. Roy R, Jonniya NA, Sk MF, Kar P. Comparative Structural Dynamics of Isoforms of Helicobacter pylori Adhesin BabA Bound to Lewis b Hexasaccharide via Multiple Replica Molecular Dynamics Simulations. *Front Mol Biosci*. 2 mai 2022;9:852895.

10. Chen BR, Li WM, Li TL, Chan YL, Wu CJ. Fucoïdan from *Sargassum hemiphyllum* inhibits infection and inflammation of *Helicobacter pylori*. *Sci Rep.* déc 2022;12(1):429.
11. Chua EG, Verbrugghe P, Perkins TT, Tay CY. Fucoïdanes Disrupt Adherence of *Helicobacter pylori* to AGS Cells In Vitro. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2015;2015:1-6.
12. Herlevic V, Morris JD. Gastric Lymphoma. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 [cité 19 juin 2022]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK567799/>
13. Abraham MJ, Murtola T, Schulz R, Páll S, Smith JC, Hess B, et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX.* sept 2015;1-2:19-25.
14. Ishikura N, Usui Y, Ito H, Kasugai Y, Oze I, Kato S, et al. *Helicobacter pylori* (HP) infection alone, but not HP-induced atrophic gastritis, increases the risk of gastric lymphoma: a case-control study in Japan. *Ann Hematol.* août 2019;98(8):1981-7.
15. Bugaytsova JA, Björnham O, Chernov YA, Gideonsson P, Henriksson S, Mendez M, et al. *Helicobacter pylori* Adapts to Chronic Infection and Gastric Disease via pH-Responsive BabA-Mediated Adherence. *Cell Host Microbe.* 8 mars 2017;21(3):376-89.
16. Ilver D, Arnqvist A, Ögren J, Frick IM, Kersulyte D, Incecik ET, et al. *Helicobacter pylori* Adhesin Binding Fucosylated Histo-Blood Group Antigens Revealed by Retagging. *Science.* 16 janv 1998;279(5349):373-7.
17. Doohan D, Rezkitha YAA, Waskito LA, Yamaoka Y, Miftahussurur M. *Helicobacter pylori* BabA–SabA Key Roles in the Adherence Phase: The Synergic Mechanism for Successful Colonization and Disease Development. *Toxins.* 13 juill 2021;13(7):485.
18. Kao CY, Sheu BS, Wu JJ. *Helicobacter pylori* infection: An overview of bacterial virulence factors and pathogenesis. *Biomedical Journal.* févr 2016;39(1):14-23.
19. Mahdavi J, Sondén B, Hurtig M, Olfat FO, Forsberg L, Roche N, et al. *Helicobacter pylori* SabA Adhesin in Persistent Infection and Chronic Inflammation. *Science.* 26 juill 2002;297(5581):573-8.
20. Talebi Bezmin Abadi A, Taghvaei T, Mohabbati Mobarez A, Vaira G, Vaira D. High correlation of babA 2-positive strains of *Helicobacter pylori* with the presence of gastric cancer. *Intern Emerg Med.* sept 2013;8(6):497-501.
21. Yamaoka Y. Increasing evidence of the role of *Helicobacter pylori* SabA in the pathogenesis of gastroduodenal disease. *J Infect Dev Ctries.* 1 juin 2008;2(03):174-81.
22. Kutzner C, Páll S, Fechner M, Esztermann A, Groot BL, Grubmüller H. More bang for your buck: Improved use of GPU nodes for GROMACS 2018. *J Comput Chem.* 15 oct 2019;40(27):2418-31.
23. Zhao Q, Song C, Wang K, Li D, Yang Y, Liu D, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* babA, oipA, sabA, and homB genes in isolates from Chinese patients with different gastroduodenal diseases. *Med Microbiol Immunol.* oct 2020;209(5):565-77.
24. Yamaoka Y. Roles of *Helicobacter pylori* BabA in gastroduodenal pathogenesis. *World J Gastroenterol.* 21 juill 2008;14(27):4265-72.

25. Hage N, Howard T, Phillips C, Brassington C, Overman R, Debreczeni J, et al. Structural basis of Lewis(b) antigen binding by the *Helicobacter pylori* adhesin BabA. *Sci Adv.* août 2015;1(7):e1500315.
26. Israel DA, Peek RM. The role of persistence in *Helicobacter pylori* pathogenesis: Current Opinion in Gastroenterology. *janv* 2006;22(1):3-7.
27. Unemo M, Aspholm-Hurtig M, Ilver D, Bergström J, Borén T, Danielsson D, et al. The Sialic Acid Binding SabA Adhesin of *Helicobacter pylori* Is Essential for Nonopsonic Activation of Human Neutrophils. *Journal of Biological Chemistry.* avr 2005;280(15):15390-7.
28. Luthuli S, Wu S, Cheng Y, Zheng X, Wu M, Tong H. Therapeutic Effects of Fucoidan: A Review on Recent Studies. *Marine Drugs.* 21 août 2019;17(9):487.
29. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, et al. UCSF Chimera?A visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem.* oct 2004;25(13):1605-12.
30. Xu C, Soyfoo DM, Wu Y, Xu S. Virulence of *Helicobacter pylori* outer membrane proteins: an updated review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* oct 2020;39(10):1821-30.