

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**UNIVERSITE de TLEMCEM**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la**

**Terre et de l'Univers**

**Département de Biologie**

## **MEMOIRE**

Présenté par

**Messaoudi Hadjer**

**Taib Samiha**

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER

Biologie Moléculaire et Cellulaire

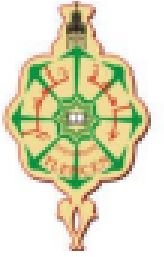
### **Thème**

**Inhibition de JUNO vers une contraception non  
hormonale**

Soutenu le 29/06/2022, devant le jury composé de :

Présidente	MEDJETI Nouria	Professeur	Université TLEMCEM
Examinatrice	DALI YOUCEF Majda	Professeur	Université TLEMCEM
Encadrante	BERRAHOUÏ Samira	Maître assistante A	Université TLEMCEM

**Année universitaire 2021/2022**



## Remerciements

Avant tout nous remercions " Allah" le tout puissant qui nous a aidé et nous a donné la force et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Nous tenons à remercier notre encadrante, Mme BERRAHOUI Samira, pour son soutien, sa grande disponibilité, ses encouragements et ses précieux conseils.

Nous tenons également à remercier, Madame MEDJATI Nouria et Madame DALI YOUCEF Majda, d'avoir accepté d'examiner ce travail, leurs remarques et critiques nous seront précieuses et enrichissantes.

Nous tenons à exprimer également toute notre reconnaissance à Mr CHERRAK Sabri pour nous avoir guidé durant la réalisation du travail avec une disponibilité permanente et de nous avoir fait bénéficier de ses connaissances dans le domaine du docking moléculaire.

Nos remerciements s'adressent aussi à tous nos enseignants du département de biologie à la faculté des sciences de la Nature et de la Vie, des sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou-Bakr Belkaid Tlemcen.

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*A mes chers parents, que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères  
sentiments,*

*Pour leur patience illimitée, leur encouragement continu, leur aide, en  
témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grand sacrifices*

*À mes chères sœurs « Imane, Nabila, Chaimaa »*

*À mes frères « Moussa et Aymen »*

*À mon amie « Amel »*

*À mon chère binôme « Hadjer »*

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail soit  
possible, je vous dis merci.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*A mes chers parents, que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères  
sentiments,*

*Pour leur patience illimitée, leur encouragement continu, leur aide, en  
témoignage de mon profond amour et respect pour leur grand sacrifice*

*À mes chères sœurs « Meriem, Fatima, Amina »*

*À mon frère « Abedelwaheb »*

*À mon amie « Amel »*

*À ma cousine « Fatima-EZahra »*

*À mon chère binôme « Samiha »*

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail soit  
possible, je vous dis merci.*

# Table de matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste de tableaux

<b>Introduction</b> .....	1
<b>Partie I : Synthèse bibliographique</b> .....	2
Chapitre 1 : Fécondation.....	2
1. Gamètes.....	2
1.1. Spermatozoïde.....	2
1.2. Ovocyte.....	2
2. Mécanisme de la fécondation.....	3
2.1. Maturation des spermatozoïdes.....	3
a. Capacitation.....	4
b. Hyperactivation.....	4
c. Réaction acrosomique.....	4
2.2. Interaction entre le spermatozoïde et la zone pellucide.....	4
2.3. Fusion du spermatozoïde avec la membrane ovocytaire.....	5
3. Acteurs moléculaires impliqués dans l'interaction gamétique.....	5
3.1. Protéines de la zone pellucide.....	5
3.2. Protéines d'adhésion.....	6
a. IZUMO1.....	6
b. CD9.....	7
c. TMEM95.....	7
d. JUNO.....	8
Chapitre 2 : Protéine JUNO.....	9

1. Localisation et rôle.....	9
2. Structure de JUNO et mode d'interaction avec IZUMO1.....	9
3. Rôle de l'interaction de JUNO avec IZUMO1.....	11
4. Rôle de la coopération entre CD9 et JUNO dans la fécondation.....	11
Chapitre 3 : Contraception.....	13
1. Types de contraception.....	13
1.1. Contraception hormonale.....	13
a. Contraceptifs hormonaux féminins.....	13
b. Contraceptifs hormonaux masculins.....	14
1.2. Contraception non hormonale.....	15
a. Contraceptifs non hormonaux féminins.....	15
b. Contraceptifs non hormonaux masculins.....	16
2. Contraception et santé publique.....	17
Chapitre 4 : Docking moléculaire .....	18
1. Généralités sur le docking moléculaire.....	18
2. Programmes du docking moléculaire.....	18
3. Utilisation du docking moléculaire dans le repositionnement des médicaments.....	19
<b>Partie II : Matériels et méthodes.....</b>	<b>22</b>
1. Screening virtuel.....	22
2. Docking moléculaire.....	22
2.1. Récepteur.....	22
2.2. Ligand.....	23
2.3. Interaction ligand-récepteur.....	23

<b>Partie III : Résultats</b> .....	32
1.Screening moléculaire.....	32
2.Docking moléculaire.....	32
<b>Partie IV : Discussion</b> .....	36
<b>Conclusion</b> .....	39
<b>Références bibliographiques</b> .....	40

## Liste des abréviations

**2D** : Deux Dimensions

**3D** : Trois Dimensions

**ZP** : Zone Pellucide

**Ig** : Immunoglobuline

**GPI** : Glycophosphatidylinositol

**DIN LNg** : Dispositif Intra Utérin Lévonorgestrel

**DMPA** : Acétate de Dépomédoxy Progestérone

**DMAU** : Undécanoate de Diméthandrolone

**MENT** : Méthyl Nortestostérone

**MD** : Dynamique Moléculaire

**FDA**: Administration of Food Drug

**PDB**: Protéine Data Bank

**RMN**: Résonance Magnétique Nucléaire

**$\Delta G$**  : Energie libre de Gibbs

**RMSD**: Root Mean Square Deviation



## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Représentation schématique de l'anatomie microscopique du spermatozoïde.....	2
<b>Figure2.</b> Structure de l'ovocyte.....	3
<b>Figure3.</b> Un complexe d'adhérence assure la liaison des spermatozoïdes aux ovules.....	5
<b>Figure4.</b> La surface moléculaire d'IZUMO1.....	7
<b>Figure5.</b> Structure globale de JUNO humain.....	9
<b>Figure6.</b> Structure du complexe IZUMO1-JUNO.....	10
<b>Figure7.</b> Interaction entre IZUMO1 et JUNO.....	11
<b>Figure8.</b> Coopération entre JUNO et CD9 .....	12
<b>Figure9.</b> Préservatif féminin.....	15
<b>Figure10.</b> Coupe schématique représentant la méthode de vasectomie.....	17
<b>Figure11.</b> Schéma du domaine C-terminal de JUNO humain.....	22
<b>Figure12.</b> La structure 3D de JUNO.....	23
<b>Figure 13.</b> Les RMSD des différentes poses du complexe JUNO-Biltricide.....	33
<b>Figure14.</b> Diagramme 3D de liaisons entre Biltricide et JUNO.....	34
<b>Figure15.</b> Diagramme 2D de liaisons entre Biltricide et JUNO.....	34

## Liste des tableaux

<b>Tableau1.</b> Les meilleurs scores $\Delta G$ révélés par le screening moléculaire.....	32
--	----

## Introduction

---

Au cours du XXe siècle, la prévention des grossesses non désirées est devenue une préoccupation majeure tant pour les femmes que pour la société dans son ensemble, aboutissant au développement du premier contraceptif hormonal mis sur le marché en 1960. Depuis lors, tous les contraceptifs administrés par voie orale sont composés de combinaisons d'hormones stéroïdes des familles des progestatifs et des œstrogènes, qui inhibent le développement folliculaire et empêchent l'ovulation et la réceptivité endométriale. Ces médicaments efficaces, ont toutefois un sérieux impact sur la santé des femmes avec de nombreux effets secondaires (**Sabatini et Cagiano, 2006 ; O'Connell et al., 2007**) même à des doses faibles (**Rosenberg et al., 1999**). Quoique les contraceptifs progestatifs « mini-pilules » réduisent bon nombre de ces risques, ont été développés de nombreux contraceptifs non hormonaux susceptibles de réduire ou d'éliminer les effets secondaires (**McCann et Potter, 1994**).

Le développement de contraceptifs de ce type, exige d'identifier les protéines impliquées dans le processus de fécondation, en dehors des récepteurs d'hormones stéroïdiennes, afin qu'elles puissent être ciblées par des candidats non hormonaux. De nombreuses protéines de ce type ont été identifiées au fil des ans, principalement par des expériences d'inactivation ou par blocage avec des anticorps (**Gupta et al., 2015**). Parmi celles-ci, deux apparaissent comme les plus cruciaux pour l'interaction initiale entre les gamètes : IZUMO1 sur le sperme, découvert par **Inoue et al. (2005)** et son partenaire sur l'ovocyte, JUNO, découvert par **Bianchi et al. (2014)**. La structure du complexe JUNO-IZUMO1 a été élucidée par cristallographie aux rayons X (**Aydin et al., 2016 ; Ohto et al., 2016**). Ces travaux publiés dans la prestigieuse revue Nature, ont identifié IZUMO1 et JUNO comme cibles idéales pour les agents contraceptifs, en raison de leur implication cruciale dans la fécondation.

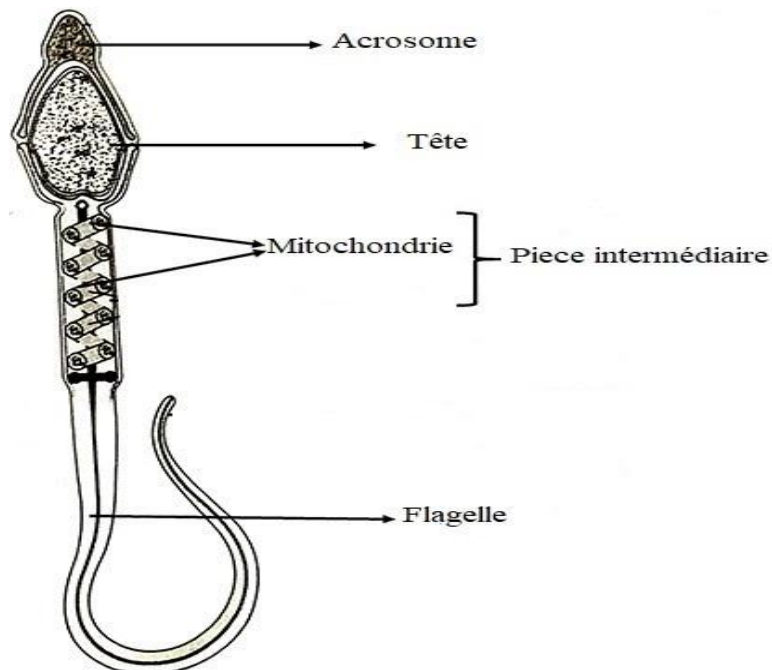
Donc il est possible d'envisager une contraception non hormonale, en inhibant la fécondation par le blocage de l'interaction JUNO-IZUMO1. Il existe aussi deux autres alternatives : soit bloquer JUNO, soit bloquer IZUMO1. JUNO a de plusieurs avantages tels que l'emplacement (à la surface de l'œuf), la rigidité conformationnelle relative (par rapport au grand changement de conformation d'IZUMO1 entre les états libre et lié) et une taille un peu plus petite de JUNO. (**Stepanenko et al., 2022**).

L'objectif de notre travail, est de rechercher parmi des médicaments disponibles et commercialisés, des molécules susceptibles de cibler JUNO afin d'inhiber son interaction avec IZUMO1 et donc empêcher la fécondation. Cette étude *in silico*, a pour but de repositionner des molécules FDA pour une approche de contraception non hormonale ciblant la protéine JUNO.

## 1. Gamètes

### 1.1. Spermatozoïde

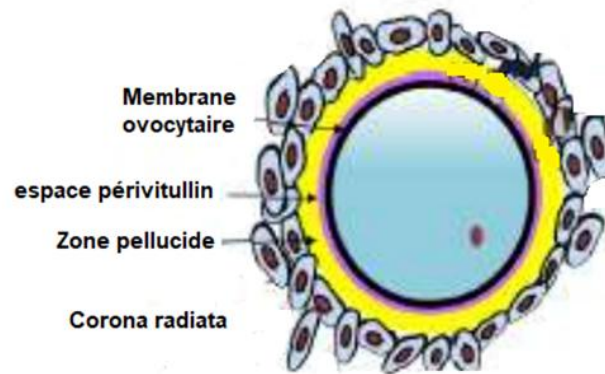
Le spermatozoïde est le gamète mâle, ce mot vient du grec “Sperma” qui signifie ‘graine’. C’est une cellule hautement spécialisée (Yamaginachi *et al.*, 1976) ; formée de trois parties : une tête (contenant l’ADN et des enzymes afin de pénétrer l’ovocyte), une pièce intermédiaire (très riche en mitochondries qui fournissent l’énergie nécessaire au mouvement) et un flagelle qui est l’organe de propulsion du spermatozoïde (figure1). Les spermatozoïdes peuvent survivre pendant 3 à 5 jours à l’intérieur du vagin (Georgadak *et al.*, 2016).



**Figure 1 : Représentation schématique de l'anatomie microscopique du spermatozoïde (Kumar et Singh, 2021)**

### 1.2. Ovocyte

L'ovocyte est le gamète femelle (Mihajlovic *et al.*, 2018). Situé au niveau de l'ovaire, c'est une grosse cellule sphérique, immobile, entourée d'une enveloppe translucide formée de protéines, la zone pellucide. A l'extérieur de la zone pellucide, l'ovocyte est inclus dans une masse cellulaire appelée cumulus oophorus, dont la couche en contact avec la zone pellucide est nommée corona radiata (figure2) (Royère, 2006).



**Figure 2 : Structure de l'ovocyte (Gahlay et Rajput, 2020)**

On distingue deux types d'ovocytes :

- Ovocyte I, ou ovocyte immature qui n'a pas de globule polaire.
- Ovocyte II, ou ovocyte mature qui possède un globule polaire dans l'espace séparant la zone pellucide et l'ovocyte (espace périvitellin) (**Jaffe et al., 2017**).

La maturation de l'ovocyte est déclenchée par des hormones d'initiation de la maturation. Il se déplace après sa maturation hors de l'ovaire pour être fécondé par un spermatozoïde (**Jaffe et al., 2017**).

## 1. Mécanisme de la fécondation

La fécondation est un processus biologique clé qui aboutit à la formation d'un zygote à partir de deux gamètes (spermatozoïde et ovocyte) qui sont chacun produit et maturés dans les voies génitales masculine et féminine, reconnaissent et fusionnent entre elles au niveau de la trompe utérine féminine (**Hanisha et al., 2019**).

### 2.1. Maturation des spermatozoïdes

Après l'éjaculation dans le tractus génital féminin, des millions de spermatozoïdes remontent vers l'utérus. Cependant, seuls quelques uns traversent les jonctions utéro-tubaires pour migrer vers l'ampoule de l'ovaire où se trouve l'ovocyte qui les attire par un chimioattractant émis par les cellules folliculaires qui l'entourent (**Wassarman et al., 2001 ; Hanisha et al., 2019**). Pendant cette traversée, les spermatozoïdes vont subir certaines modifications pour acquérir la capacité de la fécondation. Cela exige trois étapes : la capacitation, l'hyperactivation et la réaction acrosomique (**Kiipker et al., 1998**).

**a. Capacitation**

Selon **Ikawa et al. (2010)**, la capacitation est un ensemble de changements physiques et chimiques subis par les spermatozoïdes pour qu'ils deviennent aptes à féconder l'ovocyte. Ce phénomène se traduit par l'élimination de cholestérol et d'autres stérols de la surface des spermatozoïdes avec un relargage des glycoprotéines acquis dans l'épididyme à la surface du spermatozoïde.

**b. Hyperactivation**

Elle est le résultat de la capacitation et permet un déplacement latéral de la tête du spermatozoïde et une baisse de la linéarité et de la fréquence des battements et de la courbe flagellaire (**Kiipker et al., 1998**).

**c. Réaction acrosomique**

Est un phénomène exocytotique qui se déroule lors de l'interaction entre le spermatozoïde et la zone pellucide. Il implique diverses fusions entre la membrane du spermatozoïde et la membrane acrosomique externe, ce qui conduit à la formation de vésicule à membrane hybride. Cela permet l'extériorisation du contenu de l'acrosome en fonction de la concentration en  $Ca^{++}$  (**Plachot, 2000**).

**2.2. Interaction entre le spermatozoïde et la zone pellucide**

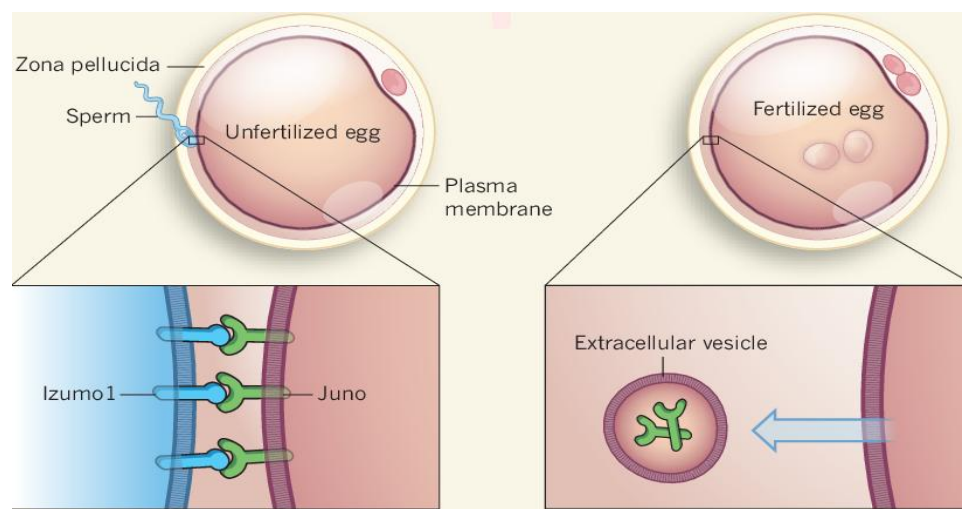
D'abord, il faut savoir de quoi est constituée la zone pellucide (ZP) pour mieux comprendre cette interaction. Elle est composée de trois ou quatre glycoprotéines : ZP1, ZP2, ZP3, ZP4 (**Hanisha et al., 2019**) et se trouve sous forme de filaments formés par des dimères de ZP2 ZP3 liés par ZP1 (**Kiipker et al., 1998**).

Lorsque le spermatozoïde atteint la zone pellucide, il s'attache premièrement par une liaison à faible affinité aux ZP3/ZP4, ce qui déclenche la réaction acrosomique dans le sperme, et permet ainsi l'extériorisation des sites situés sur la membrane acrosomique (**Serres et al., 2008**). Ces derniers vont se lier par une liaison à haute affinité avec la ZP2 (**Kiipker et al., 1998**).

Après cette interaction, les oligosaccharides de ZP3 et ZP2 sont clivés par des enzymes libérées à partir des granules corticaux de l'ovocyte (**Serres et al., 2008**).

### 2.3. Fusion du spermatozoïde avec la membrane ovocytaire

L'adhésion et la fusion des membranes des gamètes est l'événement culminant de la fécondation (**Jean et al., 2018**). Après la pénétration du spermatozoïde dans la zone ovocytaire, IZUMO1 adhère à JUNO et le CD9 qui est considéré comme procoopérant avec JUNO sur l'ovocyte. Il est également bien établi qu'après cette adhésion, JUNO est libéré de la membrane de l'ovocyte. Ce mécanisme est étroitement lié à l'inhibition de l'entrée de plusieurs spermatozoïdes dans l'ovocyte (**figure3**) (**Wenping, 2021**).



**Figure 3 : Un complexe d'adhérence assure la liaison des spermatozoïdes aux ovules (Wassarman, 2014)**

### 3. Acteurs moléculaires impliqués dans l'interaction gamétique

Un nombre important de molécules a été identifié, comme jouant un rôle dans l'interaction gamétique (adhésion et fusion) (**Inoue et al., 2005**).

#### 3.1. Protéines de la zone pellucide

Les glycoprotéines de la zone pellucide (ZP) jouent un rôle critique dans l'accomplissement de la fécondation en agissant comme ligand pour la fixation des spermatozoïdes à l'ovule, suivi de l'induction de l'exocytose acrosomique et du blocage de la polyspermie (**Satish, 2018**).

On dénombre trois protéines glycosylées ZP1.ZP2.ZP3, dont le ZP2 et ZP3 forment des longs filaments portés par ZP1. Cependant, des études génétiques et phylogénétiques ont montré qu'il existait une quatrième glycoprotéine, ZP4, chez la plupart des autres espèces dont l'Homme. Sa place dans l'architecture de la ZP n'est pas encore déterminée mais elle pourrait former des complexes avec ZP3 (**Serres et al., 2008**).

La liaison du spermatozoïde à la ZP est un phénomène complexe, faisant intervenir de nombreux partenaires protéiques et glucidiques. À sa surface, le spermatozoïde possède des protéines transmembranaires appartenant à la famille des ADAM qui sont impliquées dans la fixation de la zone du sperme, ainsi que dans le passage des spermatozoïdes sur la jonction tubulaire utérine. D'autres protéines du sperme testiculaire comme le sperme lysosomal like Protein SLLP1, la protéine SAMP14 et Sp56 sont impliquées dans la fixation de la zone secondaire car elles sont localisées dans l'acrosome et ne deviennent exposées à la structure ZP qu'après l'induction de la réaction acrosomique (**Gadella, 2008**).

### 3.2. Protéines d'adhésion

#### a. IZUMO1

IZUMO1 a été identifié comme nécessaire à la fécondation en 2005. C'est une protéine de surface cellulaire spécifique du testicule qui fait partie de la superfamille des immunoglobulines de type I. Elle est caractérisée par une queue C-terminale cytoplasmique, une région transmembranaire et un domaine IZUMO conservé, lié à un domaine type C2 extracellulaire immunoglobuline like (Ig) (**figure4**). Chacun de ces domaines joue un rôle important dans la médiation de l'adhésion des gamètes (**Inoue et al., 2005 ; Aydin et al., 2016 ; Ohto et al., 2016**). La famille IZUMO se compose de quatre protéines : IZUMO1, IZUMO2, IZUMO3, IZUMO4. Elles partagent toutes une région composée d'environ 150 acides aminés, de haute homologie entre elles, appelée domaine IZUMO, située entre le peptide signal et le domaine immunoglobuline (**Ellerman et al., 2009**).

Lors de l'exocytose de l'acrosome, IZUMO1 qui n'est pas détectable sur la membrane plasmique des spermatozoïdes, se localise au segment équatorial afin de générer une adhésion avec l'ovocyte (**Satouh et al., 2012**). IZUMO1 humain, forme un complexe de haute affinité avec JUNO et subit un changement conformationnel majeur dans son domaine N-terminal lors de la liaison à la surface de l'œuf (**Aydin et al., 2016**). L'absence d'IZUMO1 conduit à une déficience de l'adhésion des gamètes et à une accumulation des spermatozoïdes dans l'espace périvitellin (**Inoue et al., 2005**).



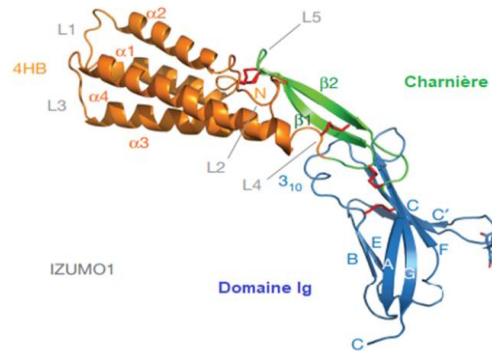


Figure 4 : La surface moléculaire d'IZUMO1 (Halaby et al., 1999)

### b. CD9

CD9, un membre de la famille des tétraspanines, est nécessaire à l'accomplissement de la fusion des gamètes (Inoue et al., 2020). Il est localisé dans la membrane microvillaire de l'ovocyte (Runge et al., 2007). Le CD9 est connu pour interagir avec diverses protéines, telles que les intégrines, et forme un complexe dynamique appelé "toile de tétraspanine". Il joue un rôle dans la phase d'adhésion préfusionnelle (Jégou et al., 2011) en se cis-associant avec JUNO (Chalbi et al., 2014).

### c. TMEM95

Est une protéine du spermatozoïde qui contient un seul domaine transmembranaire, une structure secondaire formée de  $\beta$ -épingle à cheveux et d'une hélice qui est remarquablement similaire à celle trouvée sur la protéine IZUMO1 et nommé domaine IZUMO (Ellerman et al., 2009). Elle est essentielle pour réaliser la fécondation et est hautement conservée chez les mammifères ; par conséquent, ses altérations pourraient induire une sub-fertilité masculine. TMEM95 a besoin d'un ou plusieurs partenaires, car seul, elle ne favorise pas la fusion cellulaire après la liaison de IZUMO1 et JUNO (Lamas et al., 2019). Elle pourrait réguler directement ou indirectement la fusion membranaire par une voie indépendante d'IZUMO1 ou agir comme médiateur de fusion en aval de l'interaction entre IZUMO1 et JUNO (Noda et al., 2020).

Les spermatozoïdes dépourvus de TMEM95 subissent la réaction de l'acrosome mais ne parviennent pas à fusionner avec la membrane de l'ovule (Lamas et al., 2019).

**d. JUNO**

JUNO, anciennement connu sous le nom de récepteur de folate –  $\delta$  (FOLR-  $\delta$ ), est un domaine de type glycoprotéine riche en cystéine, ancré sur le glycoposphatidylinositol (GPI) (**Aydin et al., 2016**), exprimé sur la membrane plasmique des ovocytes humains (**Jean et al., 2018**) et essentiel à la fertilité féminine. La protéine JUNO est un facteur crucial qui reconnaît IZUMO1 à la surface des spermatozoïdes pour établir l'adhésion ovocyte-spermatozoïde (**Bianchi et al., 2014**).

JUNO est libérée dans l'espace périvitellin immédiatement après la liaison du sperme, de sorte que ce récepteur ne contribue qu'à la reconnaissance ovocyte-sperme mais pas à la fusion. La protéine JUNO est exprimée sur la membrane plasmique de l'ovocyte humain et son inhibition par un anticorps monoclonal bloque complètement la fusion des gamètes (**Bianchi et al., 2014**).

## 1. Localisation et rôle

JUNO, connu sous le nom de récepteur Folate 4, est ancré sur le glycoposphatidylinositol (GPI) affiché à la surface cellulaire des cellules ovocytaires. Il est le récepteur d'IZUMO1 (**Bianchi et al., 2014**). Il est codé par le gène Folr4(membre d'une famille de quatre gènes) (**Elwood, 1989 ; Petronella et Drouin, 2014**) situé sur le chromosome 11 du génome humain (**Swanson et Vacquier, 2002**).

JUNO présente des niveaux d'expression élevés dans les ovaires et les glandes surrénales, et est également exprimée dans les ganglions lymphatiques, la rate et la thyroïde, entre autres organes (**Fagerberg et al., 2014**). En plus de participer à la reconnaissance des spermatozoïdes et des ovules, il a également été suggéré que JUNO joue un rôle dans la prévention de la fusion supplémentaire des spermatozoïdes avec un ovule déjà fécondé (**Gardner et Evans, 2006**). L'excrétion de JUNO crée une couche de " faux " œufs qui pourraient attirer et lier les spermatozoïdes réagissant à l'acrosome, les empêchant d'atteindre l'œuf déjà fécondé (**Bianchi et al., 2014**).

## 2. Structure de JUNO et mode d'interaction avec IZUMO1

JUNO a une architecture globulaire composée de cinq courtes hélices  $\alpha$  ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\alpha_3$ ,  $\alpha_4$  et  $\alpha_5$ ), trois hélices et deux courts feuilletts  $\beta$  antiparallèles à deux brins  $\beta$ -sheets. Huit liaisons disulfures conservées stabilisent les hélices centrales  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\alpha_3$  et  $\alpha_4$  et les boucles flexibles (**figure 5**) (**Aydin et al., 2016**). Comme pour les autres paralogues du récepteur des folates, la séquence protéique de JUNO a suggéré la présence d'un site d'ancrage GPI carboxy-terminal (**Bianchi et al., 2014**).

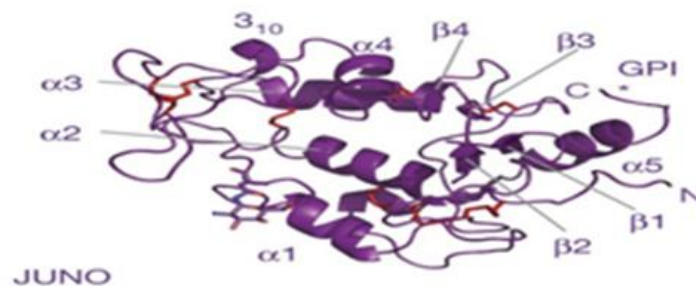
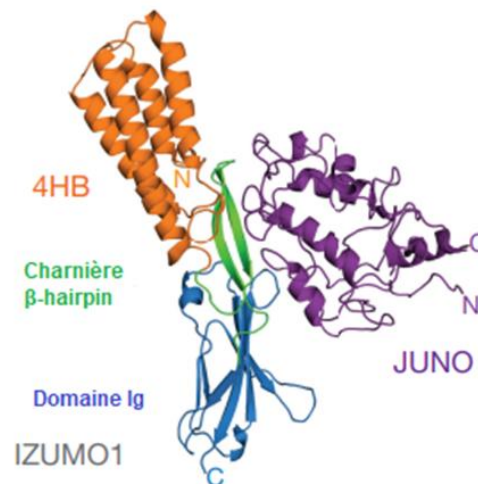


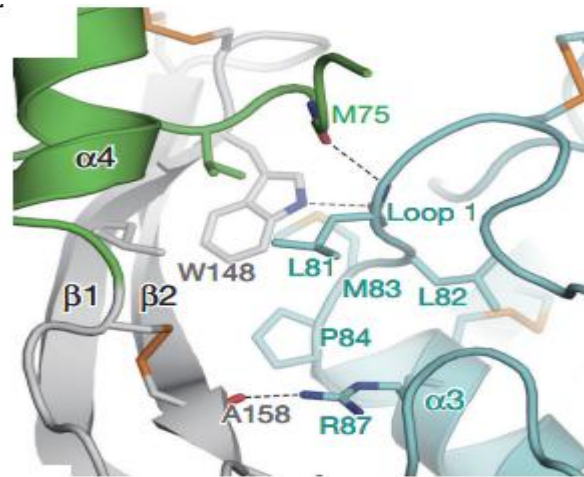
Figure 5 : Structure globale de JUNO humain (Aydin et al., 2016)

**Inoue et al. (2015)** ont établi la base structurale cristalline de la médiation IZUMO1-JUNO. IZUMO1 présente une structure en forme de bâtonnet composée d'un domaine IZUMO1 en faisceau hélicoïdal et d'un domaine de type immunoglobuline (Ig), tous deux fermement ancrés à une région intermédiaire  $\beta$ -hairpin par quatre liaisons disulfures conservées. D'autre part, JUNO a une structure sphérique qui est stabilisée par huit liaisons disulfures conservées. Il a été démontré qu'IZUMO1 interagit avec JUNO via son domaine N-terminal (**Aydin et al., 2016**). La région  $\beta$ -hairpin d'IZUMO1 qui est prise en sandwich entre IZUMO1 et les domaines immunoglobuline (Ig) constituent la principale plateforme de liaison de JUNO, tandis que la surface située derrière la poche de liaison au folate est impliquée dans la liaison d'IZUMO1 (**figure6**) (**Inoue et al., 2015**).



**Figure 6 : Structure du complexe IZUMO1-JUNO (Aydin et al., 2016)**

Ils ont ainsi identifié les acides aminés précis impliqués dans cette reconnaissance via les interactions de van der Waals, suggérant que W148 de IZUMO1 interagit avec L81, L82, M83 et P84 de JUNO (**figure 7**) et que W62 de JUNO interagit avec R160, K161, S162 et Y163 d'IZUMO1, étant responsables de l'interaction spermatozoïde-ovocyte membrane plasmique (**Ohto et al. 2016**).



**Figure 7 : Interaction entre IZUMO1 et JUNO (Ohto et al., 2016)**

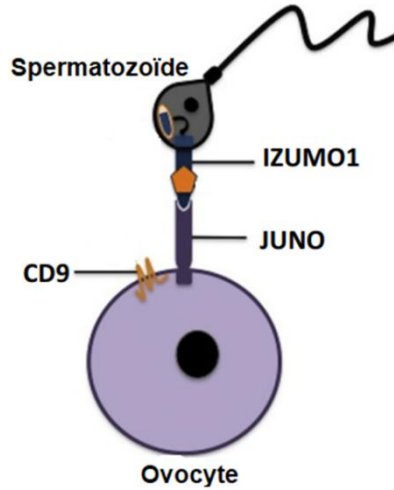
### **3. Rôle de l'interaction de JUNO avec IZUMO1**

Selon **Wassarman (2014)**, seuls IZUMO1 et JUNO peuvent interagir l'un avec l'autre. Des expériences menées **Bianchi et al. (2014)** sur des souris ont montré que l'exposition des ovules à un anticorps qui bloque JUNO, empêche à la fois la liaison d'IZUMO1 à JUNO et la fécondation *in vitro*. Par ailleurs, des souris femelles dépourvues de JUNO, étaient infertiles, les ovules récupérés chez ces souris ne pouvaient pas être fécondés par des spermatozoïdes *in vitro*. Dans cette situation, les spermatozoïdes sont incapables d'adhérer à la membrane de l'ovule, mais s'accumulent plutôt dans l'espace périvitellin qui se trouve entre la membrane de l'ovule et la zone pellucide. Même lorsque la zone pellucide a été retirée, exposant ainsi la membrane plasmique, les ovules dépourvus de JUNO ne pouvaient pas être fécondés par des spermatozoïdes *in vitro* et moins de spermatozoïdes se sont liés à la membrane de l'ovule qu'aux membranes des ovules normaux. Collectivement, ces résultats suggèrent fortement que la formation d'un complexe d'adhésion IZUMO1 –JUNO est essentielle pour la fécondation chez les mammifères.

### **4. Rôle de la coopération entre CD9 et JUNO dans la fécondation**

La biogenèse des microvillosités par l'implication de CD9 semble être un événement clé pour une fusion réussie des gamètes, car les ovocytes perturbés par CD9 produisent des structures microvillositaires courtes et clairsemées, ce qui ne permet pratiquement aucune fusion avec les spermatozoïdes. Afin de déterminer comment CD9 et JUNO coopèrent dans la fusion des gamètes, les chercheurs ont analysé les profils moléculaires de chaque molécule dans les ovocytes déficients en CD9 et JUNO. Ils ont constaté que CD9 est crucial pour l'exclusion des

protéines ancrées au GPI (**figure 8**). Grâce à une compartimentation de surface distincte due à la gouvernance de CD9, les protéines ancrées au GPI sont confinées au site de fusion approprié de l'ovocyte (**Inoue et al., 2020**).



**Figure 8 : Coopération entre JUNO et CD9 (Sankaranarayanan et Higashiyama, 2018)**

## 1. Types de contraception

La grossesse non planifiée est un problème de santé publique qui touche des millions de femmes dans le monde (**Bahamondes et al., 2019**). La contraception est le moyen le plus efficace pour éviter ce problème (**Amory, 2020**). Il existe aujourd'hui plusieurs méthodes de contraception disponibles notamment les contraceptifs hormonaux et non hormonaux (**Lane et Barnes, 1981**).

### 1.1. Contraception hormonale

C'est un moyen à base d'hormones, efficace pour prévenir la grossesse (**Minahan et al., 2021**). Les contraceptifs hormonaux diffèrent principalement par leurs composants de progestérone et comprennent : les pilules contraceptives orales, les progestatifs injectables, les dispositifs injectables, les dispositifs intra utérins contenant de la progestérone et les implants de progestérone (**Stringer et Antonsen, 2008**).

#### a. Contraceptifs hormonaux féminins

Ils suppriment la production de gonadotrophines par l'hypophyse, supprimant ainsi la production d'œstrogènes et de progestérone, et l'ovulation (**Roth et al., 2015**) :

- La prise de faible dose de progestatifs non stéroïdiens de façon continue, sous forme de pilule combinée inhibe l'ovulation (**Kubba et al., 2000**). L'administration quotidienne de 30 µg de lévonorgestrel n'induit pas une action anti ovulatoire constante, cependant, l'administration de 75µg de désogestrel exerce une action anti ovulatoire prouvée (et une action périphérique sur la glaire et l'endomètre) (**Robin et al., 2018**).
- Le dispositif intra utérin lévonorgestrel DIU LNg 20g consiste en une armature en polythène en forme de T, avec un collier contenant 52 mg de lévonorgestrel LNg. Il libère initialement 20µg de lévonorgestrel par jour puis diminue à 10-14µg par jour après 5ans. Il agit en épaississant la glaire cervicale, la rendant imperméable au sperme (**Regidor, 2018**).
- Le patch cutané est un contraceptif contenant une combinaison de norelgestromine (17-diacétyl norgestinate/éthinyloestradiol) (**Kubba et al., 2000**). Ce contraceptif oestrogestatif délivre quotidiennement 150µg de norelgestromine et 20µg d'éthinyloestradiol (**Robinet et al., 2018**).

- L'anneau vaginal estroprogestatif délivre quotidiennement 12µg l'étonogestrel et 15µg d'EE (**Robin et al., 2018**).
- L'implant sous cutané est un bâtonnet implanté sous la peau qui libère de lévonorgestrel. Il contient au total 86 mg de progestérone (**Colquitt et Martin, 2015**). Il assure une contraception fiable pendant 3ans à 5ans (**Regidor, 2018**).
- La méthode injectable la plus couramment prescrite est l'acétate de dépomédoxy progestérone (DMPA) qui est administré par injection intramusculaire tous les 3mois (**Stringer et Antonsen, 2008**) sous forme de dépôt à la dose de 150mg/1ml (**Regidor, 2018**).

#### **b. Contraceptifs hormonaux masculins**

Ils reposent sur des androgènes et des progestatifs exogènes qui suppriment la production de gonadotrophines et par conséquent la production de testostérone et de spermatozoïdes dans les testicules (**Thirumalai et Page, 2018**).

- L'acétate de ségestérone communément connu sous le nom de nestorone, est un contraceptif hormonal sous forme d'un gel, a une puissance progestative. Appliqué quotidiennement sur la peau, il réduit la production de sperme (**Thirumalai et Page, 2019**).
- L'undécanoate de diméthandrolone (DMAU) est un puissant 19-norandrogène synthétique qui agit comme un ligand aux récepteurs des androgènes et de la progestérone, et qui est administré par voie orale. Il permet une suppression réversible des gonadotrophines et des spermatozoïdes (**Amory, 2016**).
- La 7-alpha-méthyl-19-nortestostérone (MENT) est un puissant androgène synthétique, développé comme un implant pour la contraception hormonale à long terme. Il a une affinité de liaison beaucoup plus élevée au niveau du récepteur des androgènes que de la testostérone. Une étude de détermination de la dose des implants MENT, a montré une libération prolongée de MENT sur 1 an avec une suppression adéquate de la gonadotrophine et des spermatozoïdes (**Roth et Amory, 2017**).



## 1.2. Contraception non hormonale

C'est un moyen qui n'implique pas l'administration d'hormones ou de composés qui bloquent la sécrétion d'hormones. La contraception non hormonale peut être plus attrayante pour les hommes car elle évite les connotations négatives associées à l'utilisation de stéroïdes anabolisants, et elle peut être plus facilement dosée par voie orale, que les préparations de stéroïdes qui sont généralement administrées par injection. Il existe de nombreuses méthodes de contraception non hormonale pour les femmes et les hommes, dont le préservatif masculin ou féminin, le diaphragme, la cape cervicale et le spermicide (**Jacques et al., 2013**).

### a. Contraceptifs non hormonaux féminins

Les contraceptifs féminins non hormonaux bloquent sélectivement l'ovulation sans perturber la production endogène d'hormones stéroïdes. Il existe un large choix de contraceptifs féminins sans hormones (**Sivin et Batar, 2010**).

- Préservatif féminin : est une gaine en polyuréthane ou en nitrile, fermée à une extrémité de manière à couvrir le col de l'utérus et ouverte à l'autre de manière à tapisser le vagin. Il présente un anneau interne flexible qui est glissé à l'intérieur du vagin (**figure 9**). Une fois appliqué, il tapisse la paroi vaginale et empêche le contact sperme vaginal. Mis avant chaque rapport, il doit être retiré à la fin en tordant l'anneau externe afin que le sperme demeure dans la gaine. Il est à usage unique comme le préservatif masculin (**Nieschlag, 1998**).



**Figure 9 : Préservatif féminin (Festin, 2020)**

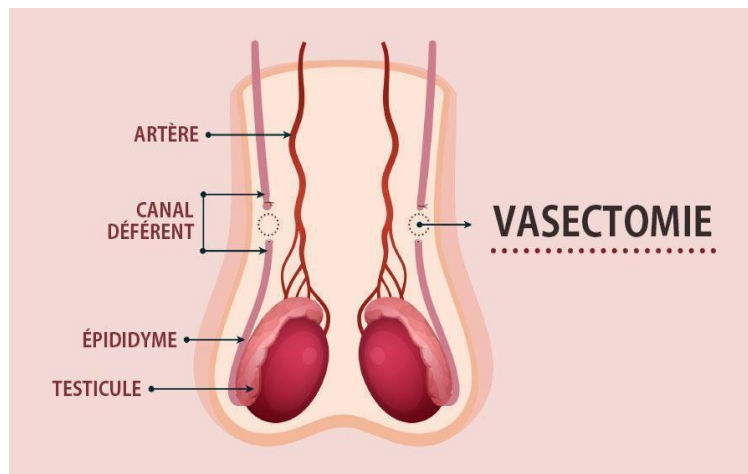
- Diaphragme : est une coupelle souple en silicone ou en latex montée sur une base circulaire à ressort et placée à l'intérieur du vagin. La fine membrane du diaphragme recouvre le col de l'utérus et bloque l'entrée des spermatozoïdes (**Valdés et al., 2000**).
- Cape cervicale : est un dôme très fin en silicone qui est placé au fond du vagin et se positionne au niveau du col de l'utérus. Elle est maintenue en place par un effet de ventouse (**Valdés et al., 2000**).

- Spermicide : est un gel de cellulose qui a une action mécanique, mais aussi par son pH acide immobilise les spermatozoïdes. Les spermicides se déposent sur la muqueuse vaginale pour prévenir la fécondation en tuant ou inactivant les spermatozoïdes quand ils montent dans la filière génitale. Le principe actif est en général un surfactant qui provoque la destruction du spermatozoïde d'abord par la destruction du flagelle, puis par éclatement de la tête. Il existe sous forme de gel, crème, mousse, ovule et éponge **(Raymond et al., 2004)**.
- Dispositif intra-utérin ou stérilet : est un petit objet en forme de T, recouvert de cuivre, inséré dans l'utérus par un professionnel de santé formé. Il libère des ions de cuivre, qui empêchent les spermatozoïdes d'atteindre l'ovule. Il peut aussi faire obstacle à l'implantation d'un ovule fécondé dans l'utérus **(Anon, 1997)**.

### **b. Contraceptifs non hormonaux masculins**

Les options de contraception non hormonale masculine efficaces sont le préservatif et la vasectomie **(Amory, 2016)**.

- Préservatif : est une gaine qui couvre le pénis durant le rapport sexuel et agit comme une barrière afin d'empêcher le sperme de pénétrer dans le vagin. Son utilisation doit suivre des règles strictes afin d'en améliorer l'efficacité **(Hassoun, 2018)**. Les préservatifs sont pour la plupart en latex. En cas d'allergie à ce dernier, il existe des modèles en polyuréthane ou en sensoprène, plus onéreux **(Shain et al., 2002)**.
- Vasectomie correspond à la section des deux canaux déférents au niveau des cordons spermatiques. C'est une simple chirurgie ambulatoire réalisée sous anesthésie locale, au cours de laquelle le canal déférent est chirurgicalement interrompu unilatéralement à travers une petite incision scrotale **(figure 10) (Huyghi et al., 2007)**. En effet, les vésicules séminales situées en aval des canaux déférents, jouent un rôle de stockage des spermatozoïdes entre les éjaculations (au même titre que la queue de l'épididyme) **(Ramasamy et Schlegel, 2011)**.



**Figure 10 : Coupe schématique représentant la méthode de vasectomie (Mieusset et al., 2013)**

## **2. Contraception et santé publique**

Certains contraceptifs ont des effets secondaires très graves, dont un risque de troubles du système cardiovasculaire tels que l'infarctus du myocarde, les accidents vasculaires cérébraux, la thromboembolie veineuse, l'embolie pulmonaire et l'hypertension (Colquitt et Martin, 2015) et l'infertilité tubaire (Geoffroy et Letombe, 2008). D'autres ont des effets moins dangereux tels que la prise de poids, une altération du métabolisme du glucose, une perte de densité minérale osseuse, des maux de tête et des changements d'humeur. Ils peuvent provoquer aussi des irritations ou des réactions allergiques et augmentent le risque d'infections des voies urinaires (Britton et al., 2020).

Par ailleurs, il existe une quantité importante de preuves épidémiologiques démontrant que l'utilisation des contraceptifs diminue le risque de cancer de l'ovaire, de l'endomètre et du côlon chez la femme au cours de sa vie (Havrilesky et al., 2013). Ils permettent aussi de réduire les ménorragies, les dysménorrhées, les douleurs liées à l'endométriose et les récives (Amat et al., 2018). Enfin, certains contraceptifs soulagent les symptômes du syndrome prémenstruel (ballonnements, crampes et acné) (Britton et al., 2020).

## 1. Généralités sur le docking moléculaire

Le docking moléculaire (ou l'amarrage moléculaire) est une méthode *in silico* basée sur la structure, largement utilisée dans la découverte de médicaments. Il permet d'identifier de nouveaux composés d'intérêt thérapeutique, de prédire les interactions ligand-cible au niveau moléculaire ou de définir les relations structure-activité, sans connaître à priori la structure chimique d'autres modulateurs de cibles. Il a été initialement utilisé pour aider à comprendre les mécanismes de reconnaissance moléculaire entre petites et grandes molécules (**Kitchen et al., 2004**).

De nombreuses études portant sur le rôle et les applications du docking, et les possibilités qu'il pourrait offrir en matière de conception et de développement de médicaments, ont été rapportées (**Gschwend et al., 1996 ; Kitchen et al., 2004 ; Meng et al., 2011 ; Ferreira et al., 2015**).

Il permet de sélectionner des profils de sécurité chimique optimisés (repositionnement de médicaments), de comprendre les relations entre différentes cibles moléculaires impliquées dans une maladie donnée, ce qui est également très important pour la polypharmacologie (**Anighoro et al., 2014**) et la découverte moderne de médicaments en général. De plus, il est utilisé pour effectuer un criblage virtuel sur de grandes bibliothèques de composés, classer les résultats, et proposer des hypothèses structurelles sur la façon dont les ligands inhibent la cible, ce qui est très utile pour l'optimisation des pistes (**Pozzan, 2006**).

## 2. Programmes du docking moléculaire

Prédire les modes de liaison et les affinités des composés lorsqu'ils interagissent avec un site de liaison à une protéine est au cœur de la conception de médicaments basée sur la structure. Par conséquent, le nombre d'algorithmes disponibles pour le docking protéine-ligand est important, les plus fréquemment cités sont respectivement (**Verdonk et al., 2003**) :

- FlexX a été étendu avec un algorithme d'intégration et de placement dès l'intégration et le placement des molécules d'eau pendant l'amarrage, mais l'amélioration moyenne de la précision du docking était faible (**Rarey et al., 1996 ; Claussen et al., 2001**).
- Avec le programme de docking SLIDE, il est possible de prédire les molécules d'eau conservées au niveau du site de liaison, qui sont déplacées pendant le docking si les

Collisions avec un ligand ne peuvent pas être résolues par des translations itératives (**Schnecke et Kuhn, 2000**).

- Pour inclure les effets de solvatation, Glide fixe des molécules d'eau explicites dans le site de liaison pour chaque molécule énergétique et emploie des termes de notation qui mesurent l'exposition de divers groupes fonctionnels aux eaux explicites (**Friesner et al., 2004**).
- Autodock prédit des modes de liaison des inhibiteurs de protéase du VIH-1 en utilisant deux méthodes de moyenne pondérée pour combiner structures cibles multiples dans une grille unique d'énergies d'interaction (**Osterberg et al., 2002**).
- Le GOLD est utilisée pour les ligands formant des contacts médiés par l'eau, mais il a diminué la précision de l'amarrage pour les ligands déplaçant les eaux (**Birch et al., 2002**).
- Le programme GRID a été utilisé avec succès pour sélectionner des molécules d'eau à rayons X pour l'arrimage de dérivés d'hydrates de carbone à l'entérotoxine thermolabile (**Minke et al., 1999**).
- SwarmDock est une méthode d'amarrage flexible qui utilise un algorithme mémétique, basé, sur la population pour optimiser les paramètres caractérisant l'orientation, la position et les conformations des sous-unités protéiques (**Barporter et al., 2019**).
- FRODOCK 2.0 est un algorithme d'amarrage de corps rigide. Il est basé sur le principe des potentiels, basés sur une grille 3D avec un potentiel basé sur la connaissance et des propriétés d'harmoniques sphériques qui aident à améliorer de manière plus significative le taux de réussite de l'amarrage (**Agrawal et al., 2019**)

### 3. Utilisation du docking moléculaire dans le repositionnement des médicaments

Les approches *in silico*, permettent aujourd'hui le criblage virtuel de millions de composés dans un délai abordable, ce qui réduit les coûts initiaux de l'identification des résultats et améliore les chances de trouver le médicament souhaité (**Pinzi et Rastelli, 2019**). Dans ce contexte, le docking moléculaire est utilisé pour faciliter différentes tâches des programmes de découverte de médicaments, l'identification et l'optimisation de cibles, le repositionnement de médicaments et la conception. A l'heure où des centaines d'essais cliniques ont été lancés dans le monde dans le but de trouver rapidement une solution thérapeutique contre certaines maladies, les médecins et chercheurs ont priorisé le repositionnement de molécules déjà approuvées en utilisant le docking moléculaire pour traiter ces maladies (**Shoichet et al., 2002 ; Kinnings et al., 2009 ; Lee et al., 2016**). On peut citer quelques exemples :

- La schistosomiase urogénitale : est causée par une infection à *Schistosoma haematobium* (*S. haematobium*), qui a été associée au développement du cancer de la vessie. Trois médicaments de réorientation, l'ivermectine, l'artéether et le praziquantel, ont été passés au crible pour trouver le puissant candidat de réorientation du médicament contre le *Schistosoma*-cancer de la vessie associé (SABC) chez l'homme en utilisant des méthodes de calcul. Des protéines glutathion S-transférases (GST) et le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) participent activement à de nombreux processus tumorigènes tels que la prolifération cellulaire, la survie cellulaire et la résistance aux médicaments. L'analyse de simulation d'amarrage moléculaire et de dynamique moléculaire (MD) a révélé que l'ivermectine ciblait efficacement les poches de liaison des protéines réceptrices du VEGF et possédait un comportement dynamique stable aux sites de liaison. Donc, il a été proposé ici que ces composés doivent être testés expérimentalement contre la signalisation VEGF et GST afin de contrôler SABC (**Siddiqui et al., 2021**).
- Le SRAS-CoV-2 : dans un travail mené par **Grahl et al. (2021)**, les chercheurs ont sélectionné à partir de 48 des médicaments antiviraux généralement disponibles, susceptibles d'inhiber une partie du cycle viral du SRAS-CoV-2, 3 candidats idéaux, à savoir le Zanamivir, la Ribavirine et le Penciclovir. Grâce aux analyses, ils ont corroboré l'observation selon laquelle la protéine Spike et la polymérase RdRp, l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 l'ACE 2 exprimée dans le tissu pulmonaire et l'ARN polymérase sont des cibles d'une grande importance pour l'inhibition du SRAS-CoV-2. Dans cette étude de repositionnement des médicaments guidé par l'amarrage moléculaire et la dynamique moléculaire, ils ont trouvé que le penciclovir était le meilleur candidat pour interférer dans l'interaction protéine Spike-ACE2, tous sont supposément capables de se lier à plus d'une protéine virale.
- Les maladies cardiaques : grâce aux techniques *in silico* de nombreux gènes impliqués dans les maladies cardiaques ont été identifiés. L'interaction entre ces gènes médicamenteux avec plus de 1600 médicaments, a ensuite été étudiée à l'aide de la simulation d'amarrage moléculaire. 24 gènes spécifiques au cœur, pouvaient être considérés comme des gènes médicamenteux, parmi lesquels seuls les gènes MYBPC3, MYLK3 et SCN5A sont entrés dans le processus d'amarrage moléculaire en raison de leurs fonctions. Par la suite, les propriétés pharmacocinétiques des 10 meilleurs ligands ayant l'affinité de liaison la plus élevée pour ces protéines ont été étudiées. Ainsi, la

méthylergonovine, le fosaprétant, le pralatrexate, la daunorubicine, le glécaprévir, la digoxine et le vénétoclax ont été jugés compétents, afin d'interagir parfaitement avec les protéines cibles (**Alikhani et al., 2021**)

- La maladie de Chagas, également connue sous le nom de trypanosomiase américaine, est une infection tropicale négligée causée par le parasite protozoaire hémoflagellé *Trypanosoma cruzi*. L'énolase est une enzyme glycolytique qui catalyse l'interconversion entre le 2-phosphoglycérate et le phosphoénolpyruvate. Par conséquent, l'énolase constitue une cible enzymatique intéressante pour l'identification de médicaments contre la maladie de Chagas. Tout d'abord, deux inhibiteurs connus de l'énolase et les substrats enzymatiques ont été utilisés comme requêtes pour le dépistage de la similitude sur la base de données Sweetlead à l'aide de cinq algorithmes différents. Les composés récupérés dans le top 10 d'au moins trois algorithmes de recherche ont été sélectionnés pour une analyse plus approfondie, ce qui a donné six composés d'usage médical (étidronate, pamidronate, fosfomycine, acétohydroxamate, triclofos et aminohydroxybutyrate). Les simulations d'amarrage moléculaire et le re-scoring de pose obtenue pour l'étidronate, le pamidronate et la PPE ont été utilisées pour les calculs de dynamique moléculaire afin de décrire leur mode de liaison. À partir des résultats obtenus, l'étidronate a été proposé comme inhibiteur potentiel de l'énolase (**Valera-Vera et al., 2019**).
- Les chercheurs ont mené une expérience d'amarrage virtuel visant à découvrir des molécules qui ciblent les interactions de fécondation cruciales de JUNO et IZUMO1. Ils ont ancré 913 000 molécules à deux structures cristallines de JUNO et les ont classées sur la base de critères liés à l'énergie. Sur les 32 candidats testés, deux molécules (c'est-à-dire, Z786028994 et Z1290281203) ont démontré un effet inhibiteur de la fécondation à la fois dans une étude *in vitro* test de fécondation (FIV) chez la souris, et une pénétration *in vitro* de sperme humain dans des ovocytes de hamster. Malgré cet effet clair sur la fécondation, ces deux molécules n'ont pas montré d'activité de blocage de l'interaction JUNO-IZUMO1 telle qu'évaluée par AVidity-based EXtracellular Interaction Screening (AVEXIS). Par conséquent, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déterminer le mécanisme d'action de ces deux inhibiteurs de la fécondation, estiment les chercheurs (**Stepanenko et al., 2022**)

### 1. .Screening virtuel

Nous avons recherché dans la base de données *Zinc* (<https://zinc15.docking.org>), les molécules approuvées par la FDA (Administration of Food and Drug) et susceptibles d'interagir avec la protéine JUNO.

*Zinc15* est un outil de recherche pour la découverte de ligands, qui relie les activités biologiques par produit générique, médicaments et produits naturels avec la disponibilité commerciale (Sterling et Irwin, 2015).

Pour télécharger les molécules FDA, nous suivons les étapes suivantes :

- Cliquer sur *Substances* pour rechercher les sous-ensembles.
- Cliquer sur *Sous-ensembles* pour rechercher les médicaments approuvés par la FDA, dans la Drug Bank.
- Télécharger les structures des ligands sous forme SDF

### 2. Docking moléculaire

#### 2.1. Récepteur

La protéine JUNO est disponible dans la *PDB*, qui contient des milliers de structures protéiques prises soit par cristallographie (rayons X) ou par RMN (Résonance Magnétique Nucléaire). Elle est répertoriée sous le code **5F4Q**. Il s'agit de l'extrémité C-terminale de JUNO s'étendant de l'acide aminé 20 à 228 (**figure 11**) et dont la structure tridimensionnelle a été déterminée par RMN (**figure 12**).

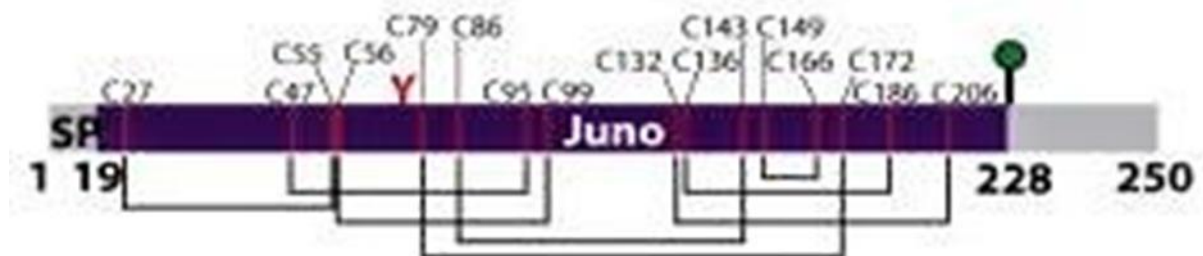


Figure 11 : Schéma du domaine C-terminal de JUNO humain (Aydin et al., 2016)



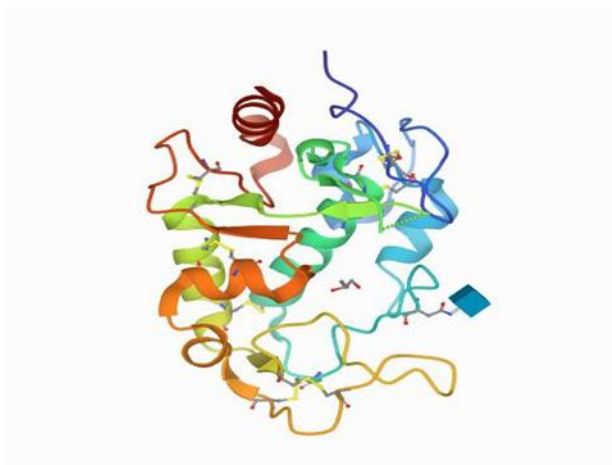


Figure 12 : La structure 3D de JUNO

## 2.2. Ligand

Nous utilisons le site *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) pour la recherche des ligands capables d'interagir avec le récepteur 5F4Q.

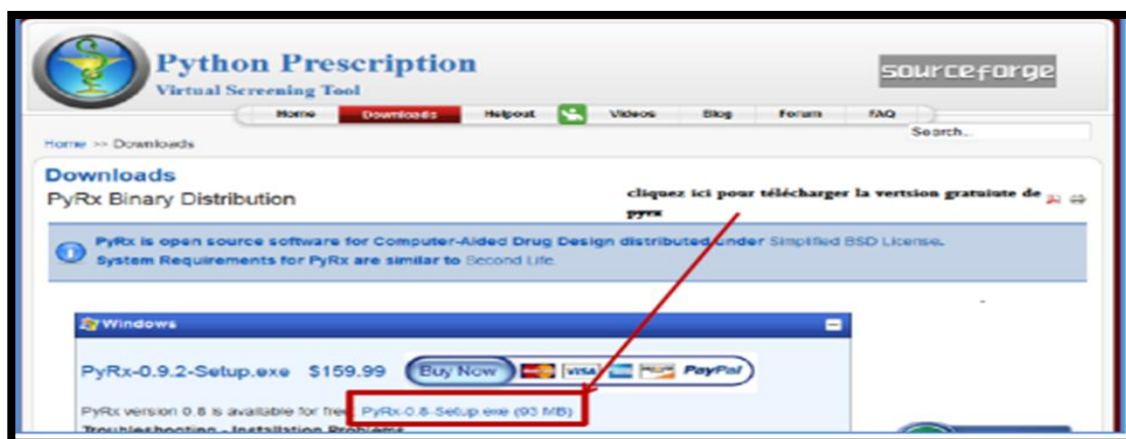
## 2.3. Interaction ligand-récepteur

Nous avons utilisé les logiciels *PyRx* et *Chimera* pour tester l'interaction ligand-récepteur.

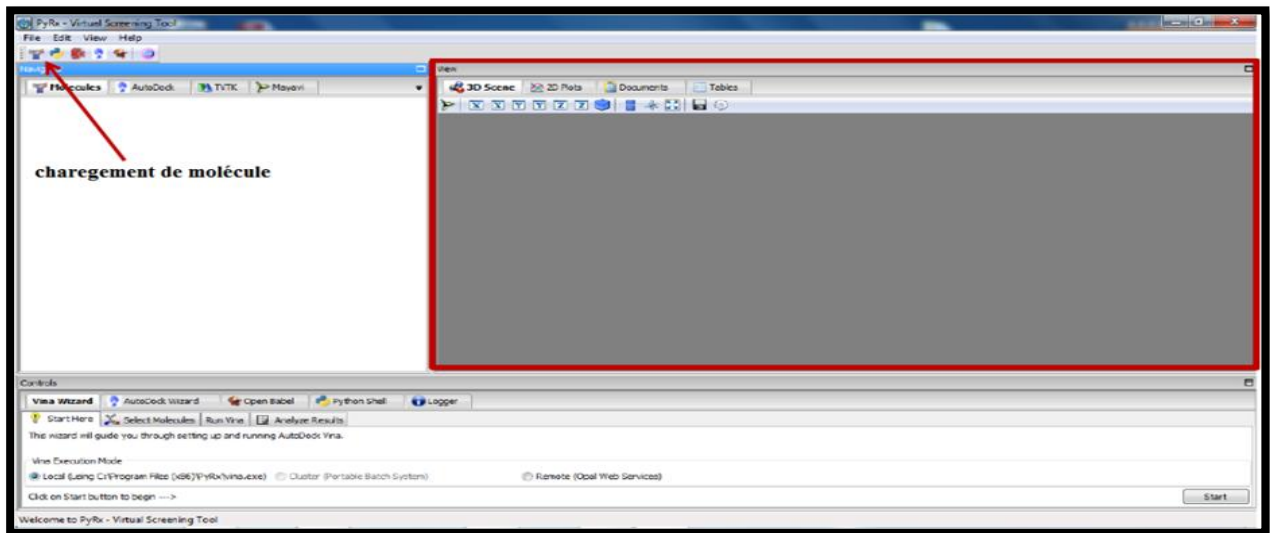
▪ **PyRx** : est un logiciel open source doté d'une interface utilisateur intuitive qui s'exécute sur tous les principaux systèmes d'exploitation (Linux, Windows et Mac OS) (Dallakyan et Olson, 2015).

Le docking moléculaire sur *PyRx* se déroule selon les étapes suivantes :

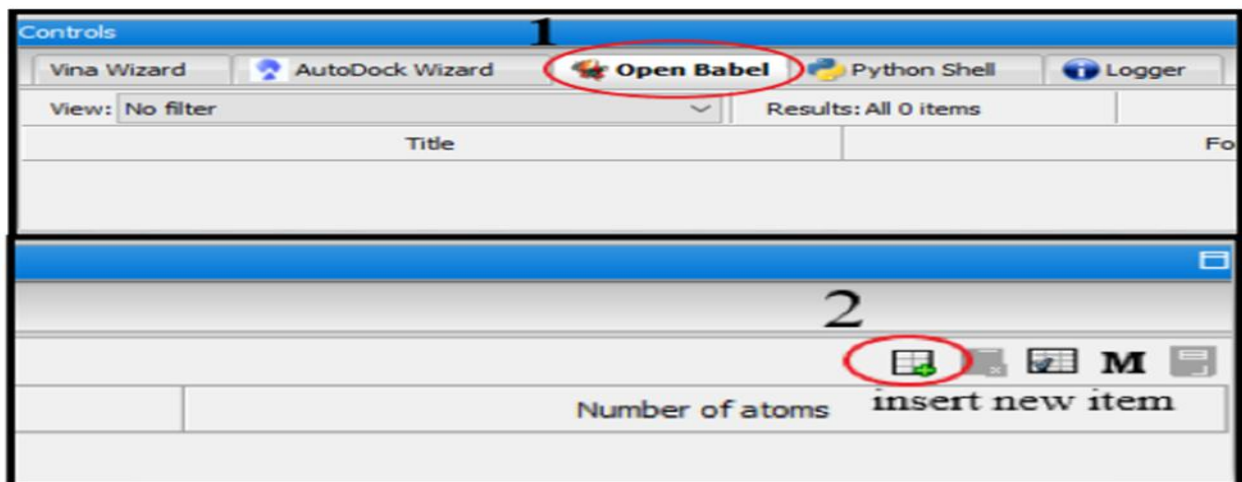
- Télécharger *PyRx* : <http://pyrx.sourceforge.net/downloads>



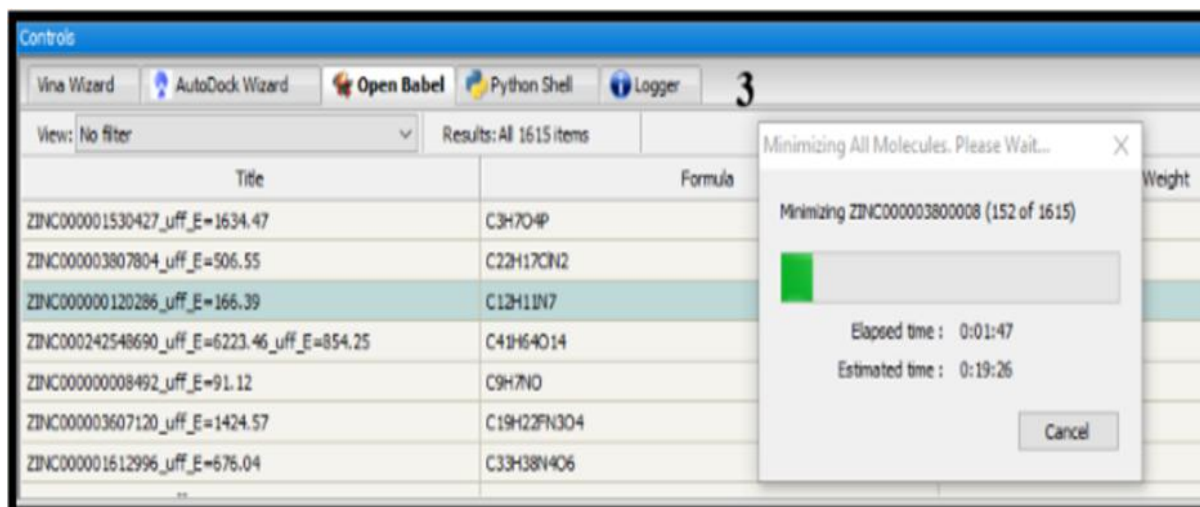
- Charger les molécules dans l'espace de travail *PyRx*.
- Cliquer sur File puis sur Load Molécule et sélectionner le fichier 4F5Q.



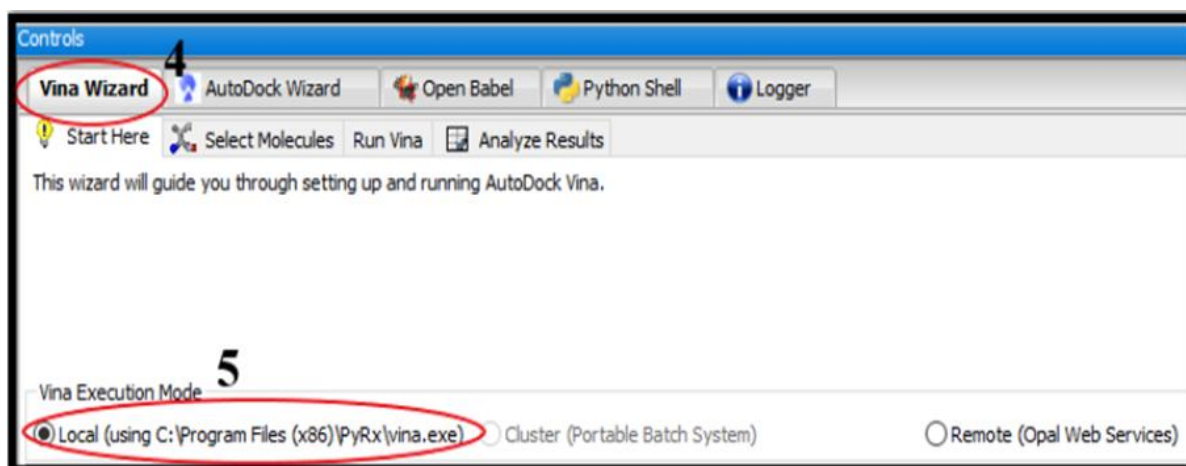
- Cliquer sur Open Babel/insert new item/ sélectionner la base de données FDA.



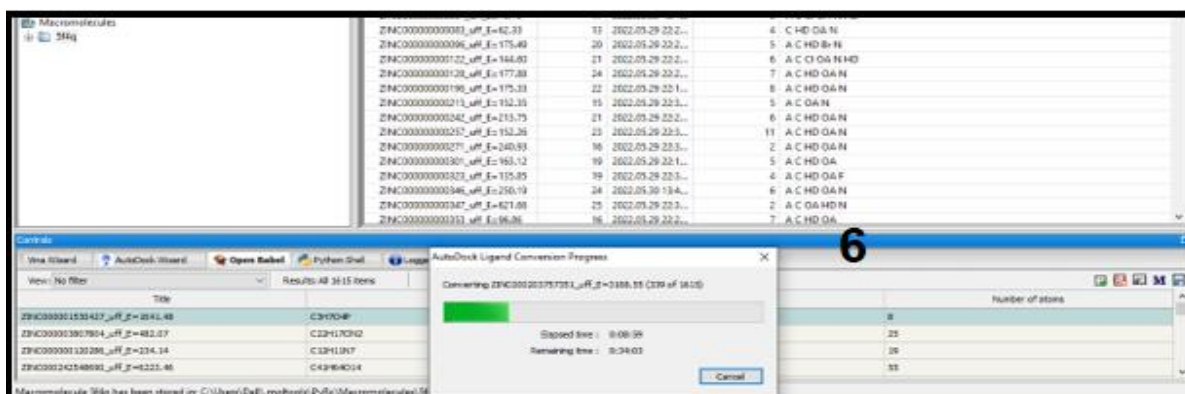
- Cliquer droit et sélectionner Minimise All.



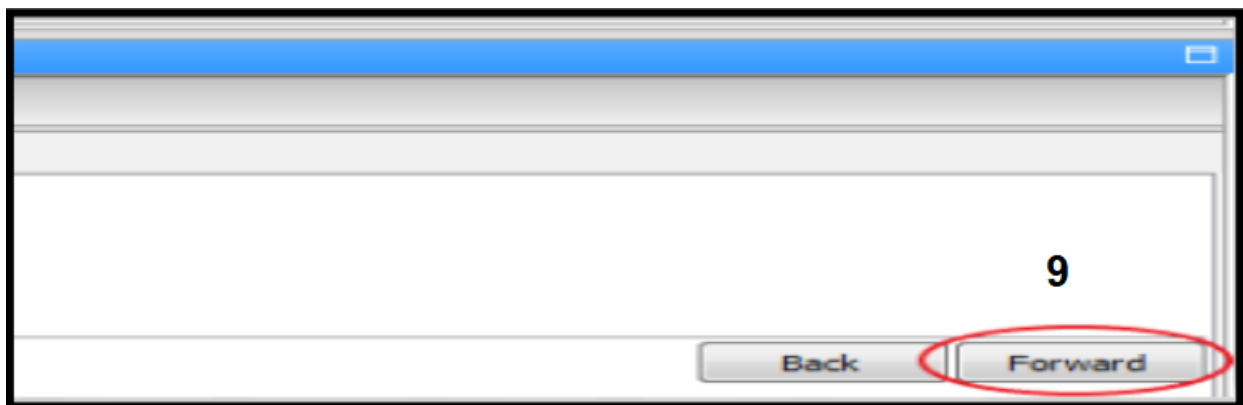
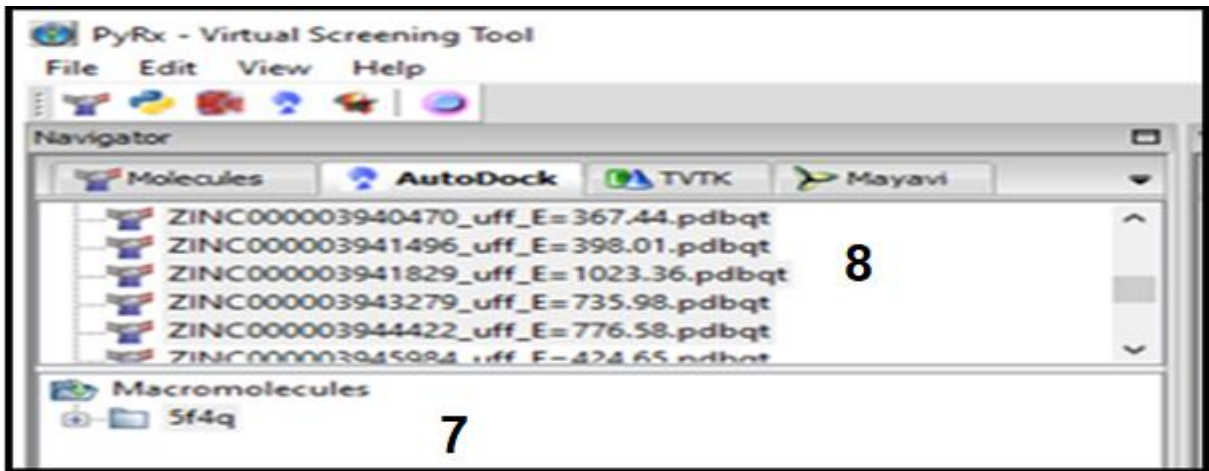
- Cliquer Vina Wizard > sélectionner Local /start /Add Macromolécule > sélectionner 4F5Q.



- Cliquer sur Open Babel puis cliquer droit sur les ligands et sélectionner Convert All to AutoDock Ligand (pdbqt).



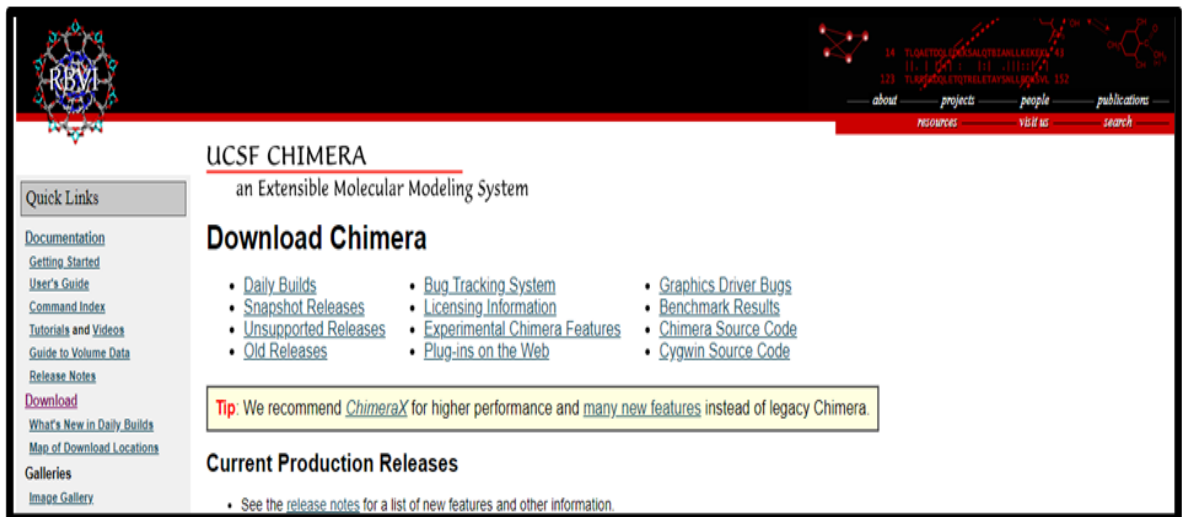
- Cliquer sur le premier ligand et sur shift puis sur le dernier ligand pour sélectionner tous les ligands/et en fin sur Forward.



- Ensuite, on transforme le fichier de minimisation pdb en pdb.qt pour entrer dans un autre programme qui s'appelle *Chimera*.
- **Chimera** : est segmenté en un noyau qui fournit des services et une visualisation de base, et des extensions qui fournissent des fonctionnalités de niveau supérieur (**Pettersen et al., 2004**).

Le processus de docking avec *Chimera* se déroule selon les étapes suivantes :

- Télécharger UCSF Chimera : <https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/download.html>



The screenshot shows the UCSF Chimera website. At the top left is the Chimera logo. The main heading is "UCSF CHIMERA" with the subtitle "an Extensible Molecular Modeling System". Below this is a "Download Chimera" section with a list of links: Daily Builds, Snapshot Releases, Unsupported Releases, Old Releases, Bug Tracking System, Licensing Information, Experimental Chimera Features, Plug-ins on the Web, Graphics Driver Bugs, Benchmark Results, Chimera Source Code, and Cygwin Source Code. A yellow tip box states: "Tip: We recommend [ChimeraX](#) for higher performance and [many new features](#) instead of legacy Chimera." Below this is a "Current Production Releases" section with a link to "See the release notes for a list of new features and other information." On the left side, there is a "Quick Links" menu with categories like Documentation, Download, and Galleries. The top right corner has navigation links for about, projects, people, publications, resources, visit us, and search.

- Préparer les stimulations de docking : ouvrir avec *UCSF Chimera* la structure pdb du récepteur (JUNO) puis les ligands, les structures de ces derniers sont téléchargées de *ZINC (docking.org)* sous forme SDF.

ZINC Substances Catalogs Tranches Biological + More + About +

/ substances / ZINC000001481956

### ZINC1481956 (Paliperidone)

In: anodyne to fts for-sale in-stock  
Google Wikipedia Pubmed

Added	Availability	Since	Mol	logP	Download
2005-09-25	In Stock	2015-09-07	426.492	3.061	↓

Mol Formula	Rings	Heavy Atoms	Hetero Atoms	FFI	Download
C23H27FN4O3	5	31	8	0.55	↓

SMILES: Cc1nc2n(c(-O)c1OCCN1CCC(dnccAcq)F)ccc3c(OCC1)CCQ(C)@H2O

InChI: INChI=1S/C23H27FN4O3/c1-14-17(23)/30/28-9-2-3-19(29)/22(28)25-14/8-12-27-10-6-15(7-11-27)1-18-5-4-16(24)13-2

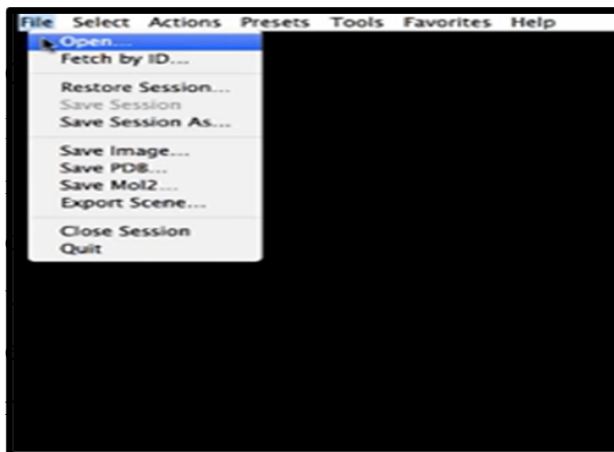
InChI Key: PK0XMMIM-BWHSKN-LJQANCHMSA-N

Available 3D Representations

pH range	Net charge	H-bond donors	H-bond acceptors	TPSA	Rotatable bonds	Apolar desolvation	Polar desolvation	Download
Reference	1	2	6	85	4	9.12	-02.94	↓

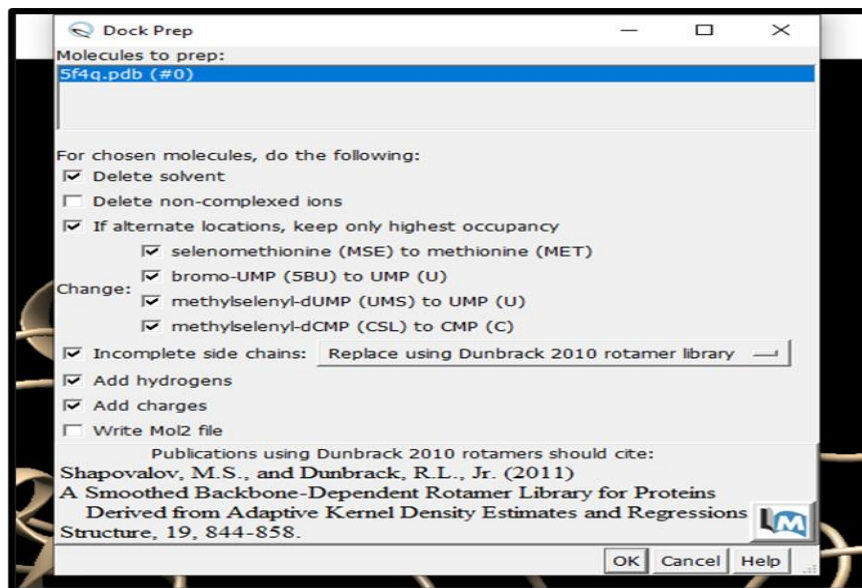
### Préparation du récepteur

- Cliquer sur File puis Open pour ouvrir le fichier 4F5Q.



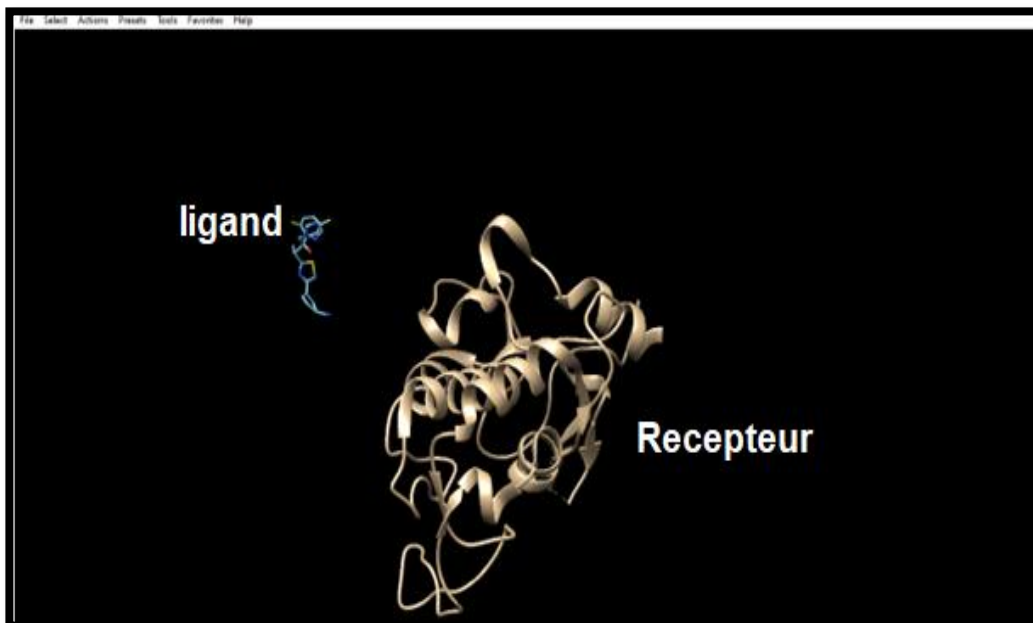
sur Tools puis sur Surface/Binding Analysis / Dock prep pour optimiser le récepteur pour l'amarrage.

- Dans Dock prep sélectionner toute les options sauf « Delte non-complexed » et « Write Mol2 file » / cliquer sur OK/OK/OK.



### Préparation du ligand

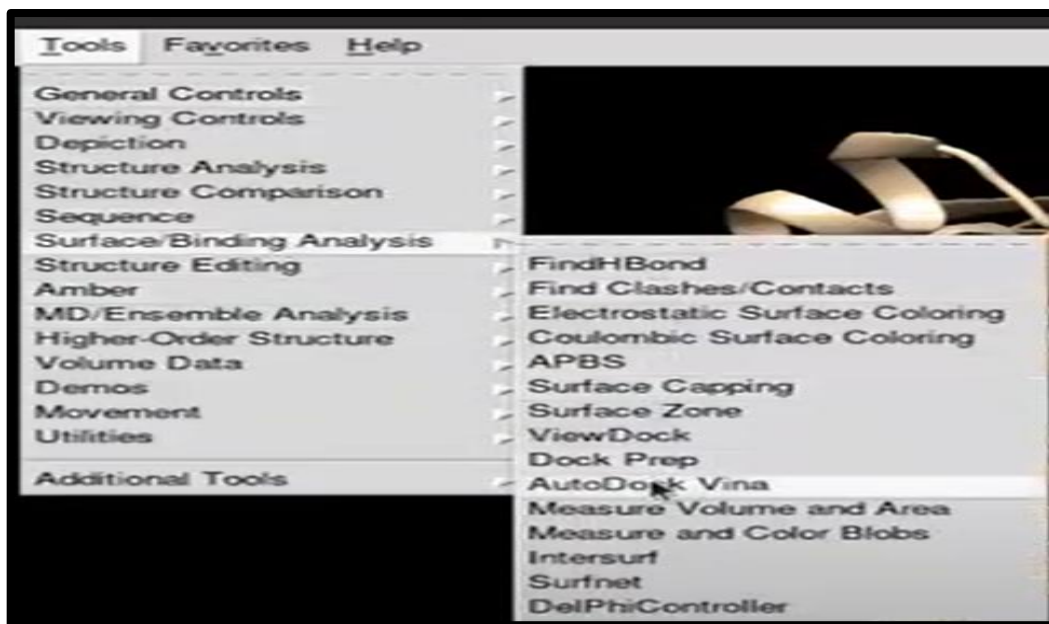
- Cliquer sur File puis Open/. On commence par ouvrir le premier ligand.



### Docking moléculaire

Pour réaliser le docking, nous préparons les paramètres de simulation.

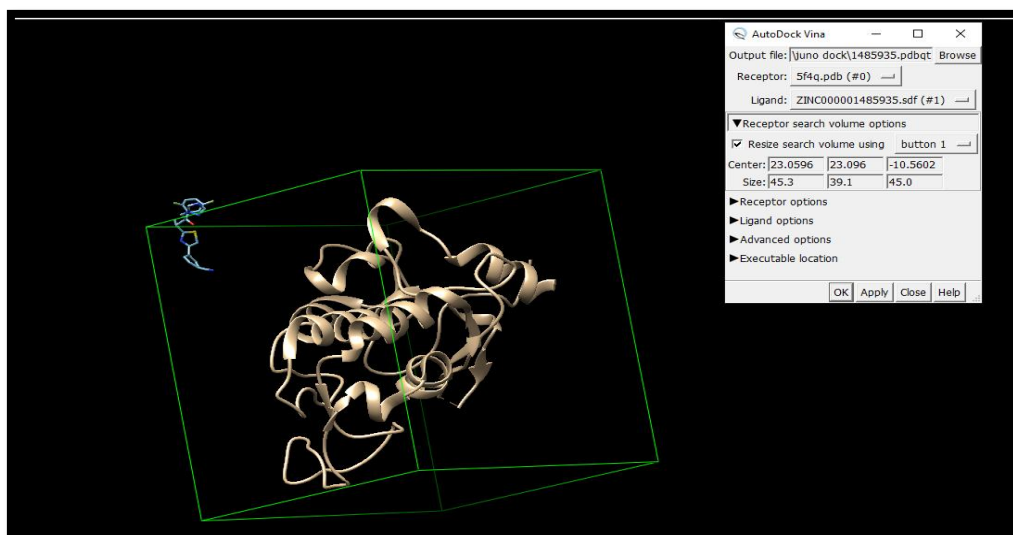
- Cliquer sur Tools/Surface/Binding Analysis/ AutoDock Vina.



- Dans AutoDock Vina cliquer sur Brose, nommer le complexe/ puis sélectionner le récepteur et le ligand /, et cliquer sur bouton 1/définir l'espace de recherche (taille et position de contre de grille).

- Cliquer sur l'écran par la souris clic droit pour mettre le complexe sur une boîte.

- Pour contrôler le mouvement de la boîte de docking nous cochons sur Resize.





- Ensuite cliquer sur Ok/ running.

L'amarrage moléculaire a maintenant commencé et une fois l'analyse terminée, l'interface « View Dock » est ouverte et le tableau de score  $\Delta G$  apparaît.

-Enfin, pour enregistrer les fichiers obtenus, cliquer sur file/save pdb/cocher le récepteur et le ligand (3.1) en cliquant sur ctrl /insérer le code de ligand dans file Name /Save.

- On recommence les mêmes étapes pour les autres ligands.

### 1. Screening moléculaire

Le screening moléculaire a permis de ressortir 1615 molécules susceptibles de cibler la protéine JUNO. Les meilleurs scores selon  $\Delta G$ , c'est à-dire l'affinité de liaison, sont donnés dans le **tableau 1**.

L'énergie libre de Gibbs ( $\Delta G$ ) introduite par Willard Gibbs, est la quantité clé dans la description de la thermodynamique des systèmes biologiques, et donc un objectif important des simulations biomoléculaires (**Fogolari et al., 2018**). Elle correspond à l'énergie disponible dans une réaction pour effectuer un travail utile. Elle est différente du changement d'énergie total d'une réaction et principe d'évolution des réactions physico-chimiques (**Reichle, 2020**).

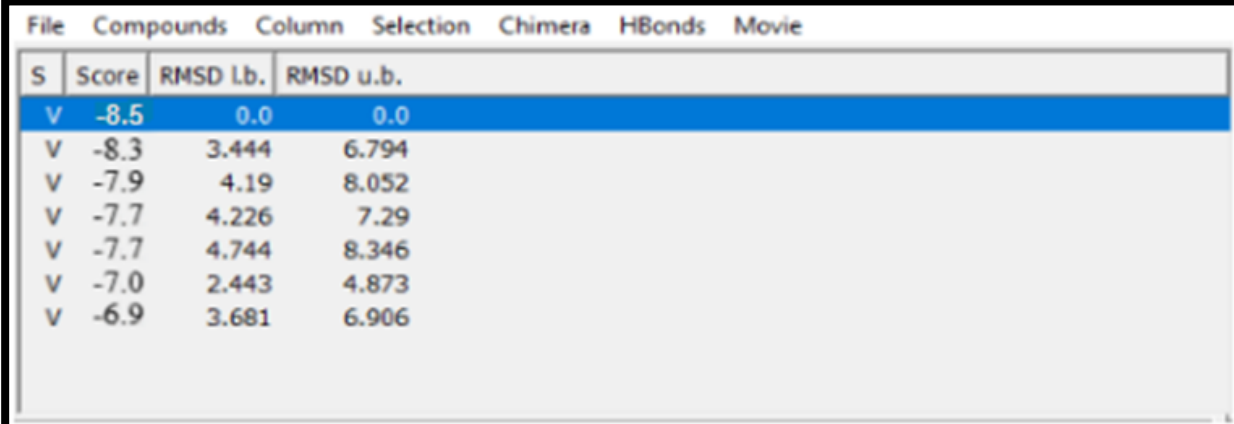
**Tableau 1. Les meilleurs scores  $\Delta G$  révélés par le screening moléculaire**

Code Zinc	Ligands	$\Delta G$ (Kcal/ml)
1530886	Telmisartan	-11.90
1481956	Paliperidone	-10.40
537791	Amaryl	-10.30
537928	Lopéramide	-9.80
1530975	Butenafine	-9.50
1485935	Isavuconazole	-9.40
537822	Haloperidol	-8.70
403566	Biltricide	-8.50

Nous avons retenu le Biltricide pour la suite des analyses.

### 2.Docking moléculaire

Le Root Mean Square Deviation (RMSD) est utilisé pour calculer la distance spatiale entre deux atomes qui sont censés être superposés, et évaluer la qualité d'un alignement structural. Un RMSD très faible signifie que l'alignement est très bon, un très fort signifie que ce n'est pas bon du tout (Coutsias et Wester, 2019). La lecture de fichier PDB sur *chiméra* permet d'obtenir les RMSD des différentes poses du complexe JUNO-Biltricide (**figure 13**).



S	Score	RMSD Lb.	RMSD u.b.
V	-8.5	0.0	0.0
V	-8.3	3.444	6.794
V	-7.9	4.19	8.052
V	-7.7	4.226	7.29
V	-7.7	4.744	8.346
V	-7.0	2.443	4.873
V	-6.9	3.681	6.906

**Figure 13 : Les RMSD des différentes poses du complexe JUNO-Biltricide**

Dans la **figure 14**, est représenté un modèle 3D amarré de JUNO-Biltricide. Cette interaction engage plusieurs types de liaisons comme le montre le diagramme 2D obtenue par *Discovery studio visualizer* (**figure 15**).

La lecture de fichier PDB par *Discovery studio visualizer* permet la visualisation du mode et le type d'interaction entre la meilleure conformation du ligand et du récepteur.

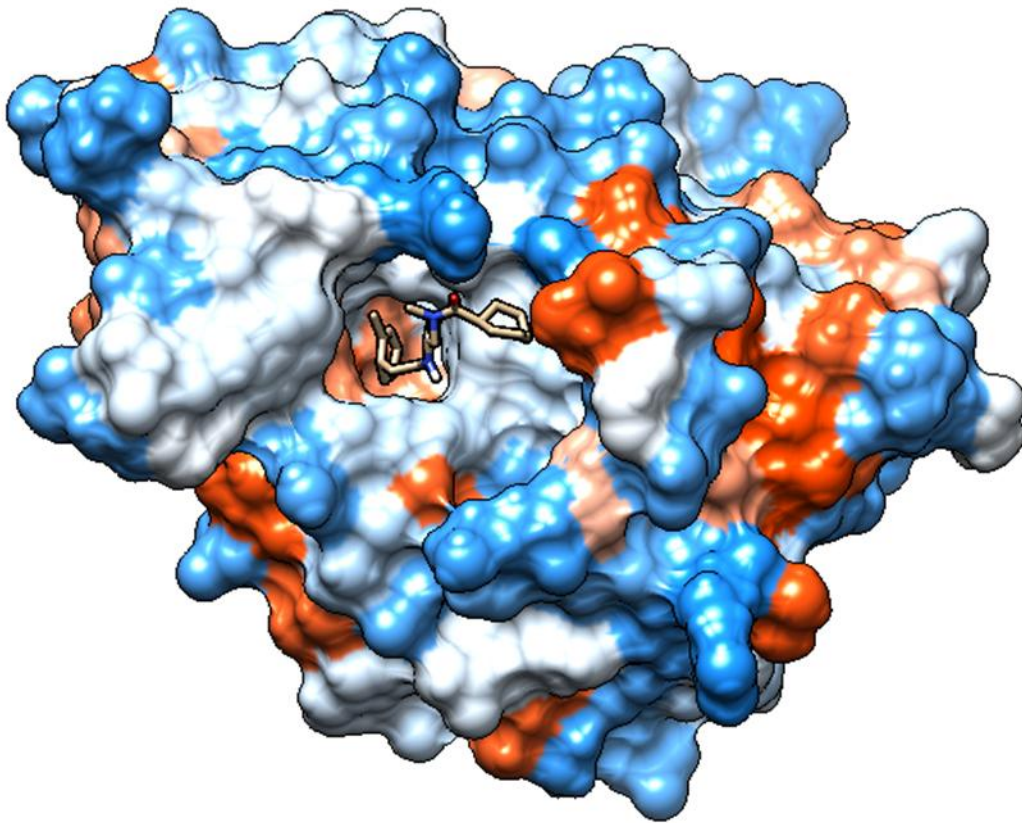


Figure 14 : Diagramme 3D amarré de complexe Biltricide-JUNO

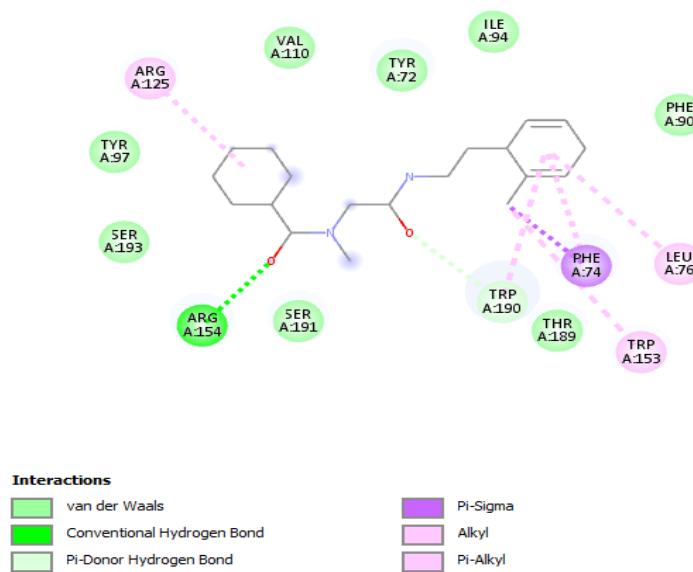


Figure 15 : Diagramme 2D de l'interaction Biltricide-JUNO

## Résultats

---

D'après la **figure 15**, nous recensons :

- 2 liaisons hydrogènes formées entre le C-ter de Biltricide et les résidus arginine en position 154 et tryptophane en position 190.

La liaison hydrogène est une liaison chimique non covalente de type dipôle-dipôle entre 2 molécules ou entre 2 groupements d'une molécule. Elle joue un rôle stabilisateur de la structure secondaire des macromolécules biologiques (**Li et al., 2021**).

-5 liaisons pi alkyl entre Biltricide et le résidu leucine en position 76, phénylalanine en position 74, tryptophane en position 190, tryptophane en position 153 et arginine en position 125.

La liaison pi alkyl est une liaison chimique covalente qui crée entre deux atomes. Les interactions non covalentes impliquant des systèmes pi sont essentielles pour des événements biologiques tels que la reconnaissance protéine-ligand (**Meyer et al., 2003**).

-1 liaison Pi-Sigma entre Biltricide et le résidu phénylalanine en position 74 (**figure 15**).

Une liaison sigma( $\sigma$ ) est une liaison chimique covalente formée par le recouvrement axial de deux orbitales atomiques (**Clayden et al., 2012**).

- De plus, nous constatons que la liaison entre Biltricide et JUNO implique des résidus d'acides aminés qui sont de nature hydrophobe ; c'est à dire que l'interaction est hydrophobe ce qui joue un rôle important dans la stabilisation de l'interaction protéine-ligand, et affecte également son affinité de liaison.

## Discussion

---

La contraception peut s'intégrer dans une stratégie de contrôle des naissances ou de planification familiale, à un niveau individuel ou collectif. Elle est souvent associée aux femmes, la majorité des solutions proposées étant conçues pour elles (**Amory, 2016 ; Roth et Amory, 2017 ; Hassoun, 2018 ; Robin et al., 2018 ; Thirumalai et Page, 2019**). La contraception hormonale demeure à nos jours, le moyen le plus utilisé ; et bien qu'efficace présente un certain nombre de contraintes et problèmes de santé pour les femmes (**Geoffroy et Letombe, 2008 ; Colquitt et Martin, 2015 ; Britton et al., 2020**).

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude, dont le but est de repositionner des molécules thérapeutiques connues, utilisées et disponibles, pour un usage en contraception non hormonale, via le blocage de la fécondation.

Comme vous le savez, la fécondation est définie comme le processus d'union de deux gamètes. Lorsque les ovules et les spermatozoïdes de mammifères entrent en contact dans l'oviducte femelle, une série d'étapes est déclenchée qui peut conduire à la fécondation et finalement au développement de nouveaux individus. Bien que ce processus ait été largement étudié, ce n'est que récemment que les composants moléculaires de l'ovule et du sperme qui participent à la voie de fécondation des mammifères ont été identifiés. Certains de ces composants peuvent participer à l'adhésion des gamètes tels que JUNO (**Wassarman et al., 2001 ; Inoue et al., 2005 ; Bianchi et al., 2014**).

Il s'agit d'un domaine de type glycoprotéine riche en cystéine, ancré sur le glycophosphatidylinositol (**Aydin et al., 2016**), exprimé sur la membrane plasmique des ovocytes humains (**Jean et al., 2018**) et essentiel à la fertilité féminine (**Bianchi et al., 2014**). En effet, plusieurs études ont montré que cette protéine interagit avec IZUMO1, une protéine présente à la surface de membrane plasmique des spermatozoïdes (**Inoue et al., 2005 ; Aydin et al., 2016 ; Ohto et al., 2016**). Cette interaction serait indispensable à la fécondation, comme le montre de nombreuses expériences *in vivo* celle-ci aussi réalisées sur des souris (**Bianchi et al., 2014**).

Son rôle important dans la fécondation offre des opportunités pour le développement rationnel de nouveaux traitements de fertilité et de contraceptifs (**Bianchi et al., 2014**).

Par une étude *in silico*, nous avons identifié 8 molécules candidates qui pourraient se lier à JUNO et éventuellement bloquer son interaction avec le récepteur de sperme IZUMO1. Ces molécules (Telmisartan, Paliperidone, Amaryl, Lopéramide, Butenafine, Isavuconazole,

## Discussion

---

Haloperidol, Biltricide) figurent parmi les médicaments approuvés par la FDA. Chacune d'elles est donc utilisée pour des indications bien déterminées et ses effets indésirables sont connues.

Le Telmisartan est un médicament prometteur pour soigner la pression artérielle, toutefois son utilisation serait susceptible de causer des infections urinaires, un déficit en globules rouges et une augmentation du taux de potassium dans le sang (**Podzolkov et Tarzimanova, 2017**).

La Paliperidone est indiquée dans le traitement de la schizophrénie et des troubles apparentés (**Corena, 2015**). Son utilisation à court et à long terme peut gravement affecter la qualité de vie : troubles menstruels, galactorrhée, dysfonctionnement sexuel, diminution de la densité minérale osseuse et cancer du sein (**Bostwick et al., 2007**).

L'Amaryl est utilisé pour le traitement du diabète de type 2 (diabète de l'adulte) (**Müller, 2000**). Parmi ces effets secondaires fréquents, figurent les réactions allergiques, chute de la tension artérielle, trouble de la circulation de la bile, inflammation du foie (hépatite) et allergie cutanée (**Skillman et Feldman, 1981**).

Le Lopéramide est un antidiarrhéique, dont l'utilisation pourrait s'accompagner de crampes et de nausées. Il peut même affecter le système nerveux central (**Baker, 2007**).

La Buténafine est un agent antimycosique contre les dermatophytes, qui peut avoir comme effets secondaires l'érythème, la dermatite de contact, les démangeaisons et l'irritation (**Polat et al., 2017**).

L'Isavuconazole est un médicament utilisé pour le traitement de de l'aspergillose invasive et de la mucormycose chez les adultes (**Shirley et Scott, 2016**). Ses effets secondaires les plus fréquemment rapportés sont les nausées, les vomissements, la diarrhée et une hépatotoxicité (**Ellsworth et Ostrosky-Zeichner, 2020**).

L'Halopéridol est un médicament antipsychotique qui peut causer un risque de délire (**Krum et al., 2021**) avec des troubles de conscience et du rythme cardiopathie (**Tebeka et al., 2017**).

Enfin le Biltricide (Praziquantel) est utilisé pour le traitement de toutes les formes de schistosomiase. Il agit de façon spécifique sur la perméabilité de la membrane cellulaire, et il est rapidement absorbé (environ 80 %), métabolisé puis éliminé par le rein (**Chai, 2013**). Le Biltricide a été déjà repositionnée dans le traitement de la maladie de psoriasis (une maladie inflammatoire de la peau) (**Hao et al., 2021**), et ne présente pas d'effets indésirables majeurs ;

## Discussion

---

il peut provoquer des céphalées, des nausées, de l'anorexie et des vomissements (**Cioli et Pica-Mattocchia, 2003**).

A la lumière de cette revue bibliographique des effets secondaires des huit molécules sélectionnées pour leur affinité de liaison avec le JUNO, il s'avère que seul le Biltricide pourrait être envisagé pour le repositionnement dans le cadre de l'utilisation de cette molécule comme contraceptif non hormonal, visant à inhiber l'interaction JUNO-IZUMO1.



## Conclusion

---

La découverte de JUNO en tant que partenaire de liaison pour IZUMO1 permet de l'identifier comme le premier récepteur de surface ovocytaire essentiel à la reconnaissance des gamètes chez les mammifères. Cette fonctionnalité en fait une cible thérapeutique parfaite pour la contraception non hormonale.

Par une approche *in silico*, nous avons identifié 1615 molécules approuvées par la FDA et susceptibles d'interagir avec JUNO. Nous en avons retenu dans un premier temps 8 qui présentaient une forte énergie de liaison. Toutefois l'analyse des indications et des effets indésirables de ces molécules thérapeutiques connues, nous a conduit à n'en retenir qu'une seule. Il s'agit du Biltricide, un médicament utilisé dans le traitement de la schistosomiase. Ce médicament a montré la huitième meilleure affinité de liaison avec JUNO, mais comparé aux autres molécules ne provoque que des effets indésirables mineurs.

Il s'avère donc un candidat potentiel pour un repositionnement dans le cadre de la contraception non hormonale via le blocage de l'interaction JUNO-IZUMO1, et par conséquent la fécondation.

Cependant, des analyses de simulation moléculaire restent indispensables pour déterminer la stabilité de cette interaction au cours du temps. Par ailleurs, seuls des tests *in vivo*, pourraient confirmer ou infirmer l'interaction JUNO-Biltricide et sa capacité à interférer avec la formation du complexe JUNO-IZUMO1, et bloquer par conséquent la fécondation.

### A

1. **Agrawal P., Singh H., Srivastava KH., Singh S., Kishore G., Raghava GPS. (2019).** Benchmarking of different molecular docking methods for protein-peptide docking. *BMC Bioinformatics*; 19(13): 106-242.
2. **Alikhani M., Shamsabadi F., Oladnabi M., Bazi Z. (2021).** In silico drug repurposing for the treatment of heart diseases using gene expression data and molecular docking techniques. *Biochem Biophys Res Commun* ; 1(572) : 138-144.
3. **Amat L., Bulach A., Leclercq M., Mesrine S., Scheffler F., Sperandeo D., Scheffler M. (2018).** Additional non-contraceptive effects of contraception: CNGOF Contraception Guidelines. *Genycol Obstet Fertil Senol*; 46(12): 883-888.
4. **Amory JK. (2016).** Male contraception. *American Society for Reproductive Medicine* ;00 :15-0282.
5. **Amory JK. (2020).** Development of Novel Male Contraceptives. *Clin Transl Sci*; 13: 228–237.
6. **Anighoro A., Bajorath J., Rastelli G. (2014).** Polypharmacology: Challenges and opportunities in drug discovery. *J. Med. Chem*;57: 7874–7887.
7. **Anon. (1997).** Long-term reversible contraception. Twelve years of experience with the TCu380A and TCu220C. *Contraception*; 56: 341–52.
8. **Aydin H., Sultana AL., Thavalingam A., Lee J. (2016).** Molecular architecture of the human sperm IZUMO1 and egg JUNO fertilization complex. *Nature*; 534, 562 565.

### B

9. **Bahamondes L., Fernandes A., Monteiro I., Bahamondes MV. (2019).** Long-acting reversible contraceptive (LARCs) methods. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*; 1521-6934.
10. **Baker DE. (2007).** Loperamide: a pharmacological review. *Rev Gastroenterol Disorder*; 7 (3): S11-8.
11. **Banri S., Yukou S., Jun I., Haruka S., Sueo N., Hideaki Y. (2017).** Location and expression of Juno in mice oocytes during maturation. *JBRA Assisted Reproduction* ;21(4) :321-326.
12. **BarPorter KA., Desta I., Kozakov D., Vajda S. (2019).** What method to use for protein–protein docking? *Current Opinion in Structural Biology* ;55 : 1-7.
13. **Berman HM., Westbrook J., Feng Z., Gilliland G., Bhat TN., Weissig H. (2000).** The protein data bank. *Nucleic Acids* ;28 :235–242.

14. **Bianchi E., Doe B., Goulding D., Wright GJ. (2014).** JUNO is the egg Izumo receptor and is essential for mammalian fertilization. *Nature*; 50 :483-7.
15. **Birch L., Murray CW., Hartshorn MJ., Tickle IJ., Verdonk ML. (2002).** Sensitivity of molecular docking to induced fit effects in influenza virus neuraminidase. *J. Comput. -Aided Mol. Des* ; 16 : 855-869.
16. **Bostwick JR., Guthrie SK., Ellingrod VL. (2007).** Antipsychotic-induced hyperprolactinemia. *Pharmacotherapy* ;29(1) :64-73.
17. **Britton LE., Alspaugh A., Madelyne ZG., McLemore MR. (2020).** CE: An Evidence-Based Update on Contraception. *AJN, American Journal of Nursing*; 120(2): 22-33.

### C

18. **Chai JY. (2013).** Praziquantel Treatment in Trematode and Cestode Infections: An Update. *Infect Chemother*; 45(1): 32-43.
19. **Chalbi M., BarraudLange V., Ravaux B., Howan K., Rodriguez N., Soule P., Ndzoudi A., Boucheix C., Rubinstein E., Wolf JPh., Ziyat A., Perez E., Pincet F., Gourier Ch. (2014).** Binding of sperm protein IZUMO1 and its egg receptor JUNO drives CD9 accumulation in the intercellular contact area prior to fusion during mammalian fertilization. *The Company of Biologists Ltd*; 141: 3732-3739.
20. **Cioli D., Pica-Mattoccia L. (2003).** Praziquantel. *Parasitol Rés* ; 90(1) : S3-9.
21. **Claussen H., Buning C., Rarey M., Lengauer T. (2001).** FlexE: Efficient molecular docking considering protein structure variations. *J. Mol. Biol*;308:377-395.
22. **Clayden J, GreevesN., Warren S. (2012).** *Organic Chemistry*; 2: 101-136.
23. **Colquitt W Ch., Martin ST. (2015).** Contraceptive methods: a review of non-barrier and barrier products. *Journal of Pharmacy Practice* ; 30(1) : 130-135.
24. **Corena M Corina. (2015).** Comparative Pharmacology of Risperidone and Paliperidone. *Drugs R D*; 15(2) :163-74.
25. **Coutsias EA., Wester MJ. (2019).** RMSD and Symmetry. *J Comput Chem*; 40(15):1496-1508.

### D

26. **Dallakyan S., Olson AJ. (2015).** Small-molecule library screening by docking with PyRx. *Methods in Molecular Biology*; 1263: 243-250.

### E

27. **Ellerman DA., Pei J., Gupta S., Snell WJ., Myles D., Primakoff P. (2009).** IZUMO is part of a multiprotein family whose members form large complexes on mammalian sperm. *Molecular Reproduction and Development* ;76 :1188–1199.

**28. Ellsworth M., Ellsworth M. (2020).** Isavuconazole : mécanisme d'action, efficacité clinique et résistance. *Journal des champignons Institut Pluridisciplinaire de l'Édition Numérique (MDPI)*; 6(4) :324.

**29. Elwood PC. (1989).** Molecular cloning and characterization of the human folate-binding protein cDNA from placenta and malignant tissue culture (KB) cells. *J. Biol. Chem.* ;264(14)893–14 901.

### F

**30. Fagerberg L., Hallstrom BM., Oksvold P., Kampf C., Djureinovic D., Odeberg J., et al. (2014).** Analyse de l'expression spécifique des tissus humains par intégration à l'échelle du génome de la transcriptomique et de la protéomique basée sur les anticorps. *Protéomique des cellules Mol* ; 13 (2) :397–406.

**31. Fogolari F., Corazza A., Esposito G. (2018).** Free Energy, Enthalpy and Entropy from Implicit Solvent End-Point Simulations. *Front Mol Biosci*; 5: 1-5.

**32. Ferreira LG., Dos Santos RN., Oliva G., Andricopulo AD. (2015).** Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules*; 20: 13384–13421.

**33. Festin MPR. (2020).** Overview of modern contraception. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*:1521-6934.

**34. Friesner RA., Banks JL., Murphy RB., Halgren TA., Klicic JJ. (2004).** Glide: A New Approach for Rapid, Accurate Docking and Scoring.1. Method and Assessment of DockinG Accuracy. *J. Med. Chem*; 47 :1739-1749.

### G

**35. Gadella BM. (2008).** The assembly of a zona pellucida binding protein Complex in Sperm. *Reprod Dom Anim*; 43(5): 12–19.

**36. Gardner AJ., Evans JP. (2006).** Blocage de la membrane des mammifères à la polyspermie : nouveaux indices sur la façon dont les œufs de mammifères empêchent la fécondation par plusieurs spermatozoïdes. *Développements de la fécondation reproductive* ; 18 : 53–61.

**37. Gahlay KG., Rajput N. (2020).** The Enigmatic Sperm Proteins in Mammalian Fertilization: An Overview. Oxford University Press on behalf of Society for the Study of Reproduction; 1-46.

**38. Geoffroy R., Letombe B. (2008).** Non contraception hormonale. *Rev Prat* 58(1) : 29-40.

**39. Georgadaki K., Khoury N., Spandidos AD., Zoumpourlis V. (2016).** The molecular basis of fertilization. *International Journal of molecular medicine*; 38: 979-986.

40. **Grahl, MVC., Alcará, AM., Perin, APA., Moro CF., Pinto ÉSM., Feltes BC., Ghilardi MI., Rodrigues FVF., Dorn M., Da Costa CJ., De Souza NO., Ligabue-Braun, R. (2021).** Evaluation of drug repositioning by molecular docking of pharmaceutical resources available in the Brazilian healthcare system against SARS-CoV-2. *Informatics in Medicine Unlocked* ; 23 (100539) : 2352-9148.
41. **Gschwend DA., Good AC., Kuntz ID. (1996).** Molecular docking towards drug discovery. *J. Mol. Recognit*; 9 :175–186.
42. **Gupta SK., Malik A., Arukha AP. (2015).** Cibles ovariennes et ovocytaires pour le développement de contraceptifs féminins. *Avis d'expert. Là. Cibles* 19 ;(11) :1433–1446.

### H

43. **Halaby DM., Poupon A., Mornon JP. (1999).** The immunoglobulin fold family: sequence analysis and 3D structure comparisons. *Protein Eng*; 12 :563–571.
44. **Han L., Nishimura K., Al Hosseini HS., Bianchi E., Writgh GJ., Jovine L. (2016).** Divergent evolution of vitamin B9 binding underlies Juno-mediated adhesion of mammalian gametes. *Curr Biol*; 26(3): R100–R101.
45. **Hanisha HB., Fares HR., Matteo AA. (2019).** The molecular mechanisms mediating mammalian fertilization. *The Company of Biologists Ltd Development*; 146 :1-13.
46. **Hao L., Mao Y., Park J., Bae EJ., Park BH. (2021).** Repurposing the anthelmintic praziquantel to treat psoriasis. *Br J Pharmacol*; 178(23):4726-4740.
47. **Havrilesky LJ., Moorman PG., Lowery WJ. (2013).** Oral contraceptive pills as primary prevention for ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol* ;122(1) :139e47.
48. **Hssoun D. (2018).** Méthodes de contraception naturelles et méthodes barrières. *GIFS* ;3017 :1-10.
49. **Huyghe E., Blanc A., Nohra J., Khedis M., Labarthe P, Rouge D et al. (2007).** Vasectomy and vas deferens contraceptive surgery, legal and technical aspects. *Prog Urol* ;17 :789-93.

### I

50. **Ikawa M., Inoue N., Adam MB., Masaru. (2010).** Fertilization: a sperm's journey to and interaction with the oocyte. *The journal of clinical investigation* ;120(4): 1-11.
51. **Inoue N., Ikawa M., Isotani A., Okabe M. (2005).** The immunoglobulin superfamily protein IZUMO is required for sperm to fuse with eggs. *Nature* ;434 :234-238.
52. **Inoue N., Hagihara Y., Wright D., Suzuki T., Wada I. (2015).** Oocytetriggered dimerization of sperm IZUMO1 promotes sperm-egg fusion in mice. *Nat. Commun*; 6 :1-12.

**53. Inoue N., Saito T., Wada I. (2020).** Unveiling a novel function of CD9 in surface compartmentalization of oocytes. The Company of Biologists Ltd.

### J

**54. Jacques J., Ngatchou N., Amory J K. (2013).** New approaches to male non-hormonal contraception. *Contraception.* ; 87(3) : 296–299.

**55. Jaffe LA., Egbert JR. (2017).** Regulation of Mammalian Oocyte Meiosis by Intercellular Communication Within the Ovarian Follicle. *Annu. Rev. Physiol* ;79 :237–260.

**56. Jean C., Haghighirad F., Zhu Y., Chalbi M., Ziyat A., Rubinstein E., Gourier C., Yip P., Wolf JP., Lee JE., Boucheix C., Barraud-Lange V. (2018).** JUNO, the receptor of sperm IZUMO1, is expressed by the human oocyte and is essential for human fertilisation. *Human Reproduction*; pp :1-9.

**57. Jégou A., Ziyat A., Barraud-Lange V., Perez E., Wolf JPh., Pincet F., Gourier CH. (2011).** CD9 tetraspanin generates fusion competent sites on the egg membrane for mammalian fertilization *PNAS*;108: 10946–10951.

### K

**58. Kiipker W., Diedrich K., Edwards RG. (1998).** Principles of mammalian fertilization. *Human Reproduction* ;13: 20-32.

**59. Kinnings SL., Liu N., Buchmeier N., Tonge PJ., Xie L., Bourne PE. (2009).** Drug discovery using chemical systems biology: Repositioning the safe medicine Comtan to treat multi-drug and extensively drug resistant tuberculosis. *PLoS Comput. Biol*; 5: e1000423.

**60. Kitchen DB., Decornez H., Furr JR., Bajorath J. (2004).** Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nat. Rev. Drug Discov* ; 3 : 935–949.

**61. Klinovska K., Sebkova N., Dvorakova-Hortova K. (2014).** Sperm-Egg Fusion: A Molecular Enigma of Mammalian Reproduction. *Int. J. Mol. Sci*;15: 10652-10668.

**62. Krum BN., Martins AC Jr., Queirós L., Ferrer B., Milne GL., Soares FAA., Fachineto R., Aschner M. (2021).** Haloperidol Interactions with the dop-3 Receptor in *Caenorhabditis elegans*. *Mol Neurobiol*; 58(1):304-316.

**63. Kubba A., Guillebaud J., Anderson RA., MacGregor EA. (2000).** Contraception. *THE LANCET*; 356: 1913-1919.

**64. Kumar N., Singh AK. (2021).** The anatomy, movement, and functions of human sperm tail: an evolving mystery. *Biology of Reproduction*; 104 (3): 508–520.

### L

65. **Lamas TI., Fonseca BN., Querejeta FA., Izquierdo MJ., Gonza BL., Lorenzo PL., Garci RP., Aviles M., Bermejo AP. (2019).** ZP4 confers structural properties to the zona pellucida essential for embryo development. *eLife*; 48904:8.
66. **Lane C., Barnes AB. (1981).** *Contraception*. Prim care; 8(1): 45-53.
67. **Lee A.; Lee K.; Kim D. (2016).** Using reverse docking for target identification and its applications for drug discovery. *Expert Opin. Drug Discov*; 11 :707–715.
68. **Li C., Hilgeroth P., Hasan N., Ströhl D., Kressler J., Binder WH. (2021).** Comparing C2=O and C2=S Barbiturates: Different Hydrogen-Bonding Patterns of Thiobarbiturates in Solution and the Solid State. *Int J Mol Sci*; 22(23):12679.

### M

69. **McCann MF., Potter LS. (1994).** Contraception orale progestative : un examen complet. *Contraception* 50 ; (6 Suppl. 1) : S1–S195.
70. **Meng XY., Zhang HX., Mezei M., Cui M. (2011).** Molecular docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. *Curr. Comput. Aided. Drug Des* ; 7 :146–157.
71. **Meyer EA., Castellano RK., Diederich F. (2003).** Interactions avec les cycles aromatiques dans la reconnaissance chimique et biologique. *Angewandte Chemie International Edition en anglais*; 42 (11): 1210–1250.
72. **Mieusset R., Soufir JC., Jardin A., Izard V. (2013).** *La contraception masculine*. Springer Science & Business Media : 129-136.
73. **Mihajlovic AI., FitzHarris G. (2018).** Segregating Chromosomes in the Mammalian Oocyte. *Current Biology*; 28: R895–R907.
74. **Minahan KC., Ela JE., White K., Grossman D. (2021).** Contraindications to hormonal contraception among postpartum women in Texas. *Obstetrics and Gynecology* ; 137(5) : 907-915.
75. **Minke WE., Diller DJ., Hol WGJ., Verlinde C. (1999).** The role of waters in docking strategies with incremental flexibility for carbohydrate derivatives: Heat-labile enterotoxin, a multivalent test case. *J. Med. Chem* ; 42 :1778-1788.
76. **Mullins JG. (2012).** structural modelling pipelines in next generation sequencing projects. *Adv Protein Chem Struct Biol* ;89 :117.
77. **Müller G. (2000).** The molecular mechanism of the insulin-mimetic/sensitizing activity of the antidiabetic sulfonylurea drug Amaryl. *Mol Med*; 6(11):907-33.

### N

78. **Nieschlag E. (1998).** Behre HM. Eds Testosterone: action, deficiency, substitution 2 edn. Berlin: Springer-Verlag: 513–28.
79. **Noda T., Lu Y., Fujihara Y., Oura S., Koyano T., Kobayashi S., Matzuk MM., Ikawa M. (2020).** Sperm proteins SOF1, TMEM95, and SPACA6 are required for sperm-oocyte fusion in mice. PNAS ;117 :11493–11502.

### O

80. **O'Connell, K., Davi AR., Kerns J. (2007).** Contraceptifs oraux : effets secondaires et dépression chez les adolescentes. Contraception 75 ;(4) :299–304.
81. **Ohto U., Ishida H., Krayukhina E., Uchiyama S., Inoue N., Shimizu T. (2016).** Structure of IZUMO1-JUNO reveals sperm-oocyte recognition during mammalian fertilization. Nature ; 534 :566-569.
82. **Osterberg F., Morris GM., Sanner MF., Olson A J., Goodsell DS. (2002).** Automated docking to multiple target structures: incorporation of protein mobility and structural water heterogeneity in AutoDock. Proteins; 46: 34-40.

### P

83. **Plachot M. (2000).** Fertilization. Human Reproduction; 15(4): 19-30.
84. **Petronella N., Drouin G. (2014).** Purifying selection against gene conversions in the folate receptor genes of primates. Genomics ; 103 :40–47.
85. **Pettersen EF., Goddard TD., Huang CC., Couch GS., Greenblatt DM., Meng EC., Ferrin T. (2004).** UCSF Chimera - un système de visualisation pour la recherche exploratoire et l'analyse. J Comput Chem ; 25(13) : 1605-12.
86. **Pinzi L., Rastelli G. (2019).** Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. Int J Mol Sci ; 20(18) : 1-23.
87. **Podzolkov VI., Tarzimanova AI. (2017).** Telmisartan in the treatment of hypertensive patients. Ter Arkh ;89(6):110-113.
88. **Pozzan A. (2006).** Molecular descriptors and methods for ligand based virtual high throughput screening in drug discovery. Curr Pharm Des ;12(17) : 2099–2110.

### R

89. **Ramasamy R., Schlegel PN. (2011).** Vasectomy and vasectomy reversal: an update. Indian J Urol ;27 :92-7.
90. **Rare M., Kramer B., Lengauer T., Klebe G. (1996).** A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm. J. Mol. Biol; 261: 470-489.



91. **Raymond EG., Chen PL., Pierre-Louis B., Luoto J., Barnhart KT., Bradley L., et al. (2004).** Participant characteristics associated with withdrawal from a large randomized trial of spermicide effectiveness. *BMC Med Res Methodol* ;4 :23.
92. **Reichle D E. (2020).** Traitement de l'énergie par les animaux. Le cycle mondial du carbone et le changement climatique ; Pages 55-78.
93. **Regidor PA. (2018).** Clinical relevance in present day hormonal contraception. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*; 30: 1-11.
94. **Robin G., Plouvier P., Delesalle AS., Rolland AL. (2018).** Contraception hormonale en pratique hors dispositifs intra-utérins RPC Contraception CNGOF. Elsevier Masson SAS ; 3018 : 2468-7189.
95. **Rosenberg MJ., Meyers A., Roy V. (1999).** Efficacité, contrôle du cycle et effets secondaires des contraceptifs oraux à faible et à faible dose : un essai randomisé de préparations d'œstrogènes à 20 µg et 35 µg. *Contraception* 60 ;(6) : 321–329.
96. **Roth MY., Page ST., Bremner WJ. (2015).** Male hormonal contraception: looking back and moving forward. *Andrology*; 4: 4-12.
97. **Roth MY., Amory JK. (2017).** Beyond the condom: frontiers in male contraception. *seminars in reproductive medicine*; (212): 584-4662.
98. **Royère D. (2006).** L'ovocyte : avancées fondamentales et thérapeutiques. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* ; 35 (Cahier 2) : 2S8-2S13.
99. **Runge KE., Evans JE., Hi ZY., Gupta S., McDonald KL., Stahlberg H., Primakoff P., Myles DG. (2007).** Oocyte CD9 is enriched on the microvillar membrane and required for normal microvillar shape and distribution. *Developmental Biology*; 304: 317–325.

### S

100. **Sabatini R., Cagiano R. (2006).** Profils de comparaison du contrôle du cycle, des effets secondaires et de la satisfaction sexuelle de trois contraceptifs hormonaux. *Contraception* ; 74 (3) : 220–223.
101. **Sankaranarayanan S., Higashiyama T. (2018).** Capacitation in Plant and Animal Fertilization. *Trends in Plant Science*; 23: 129-139.
102. **Satish KG. (2018).** The Human Egg's zona pellucida. *Current Topics in Developmental Biology*;130: 379-411.
103. **Satouh Y., Inoue N., Ikawa M., Okabe M. (2012).** Visualization of the moment of mouse sperm–egg fusion and dynamic localization of IZUMO1. *J. Cell Sci* ;125 : 498.

- 104. Schnecke V., Kuhn LA. (2000).** Virtual screening with solvation and ligand-induced complementarity. *Perspect. Drug Discovery Des* ;20 :171-190.
- 105. Serres C., Jana A., François P., Catherine P., Pierre J. (2008).** Les partenaires moléculaires impliqués dans l'interaction entre spermatozoïdes et zone pellucide chez les mammifères. Conséquences pour la fertilité humaine. *Journal de la Société de Biologie* ; 202 (2) :119-128.
- 106. Shain RN., Perdue ST., Piper JM., Holden AE., Champion JD., Newton ER et al. (2002).** Behaviors changed by intervention are associated with reduced STD recurrence: the importance of context in measurement. *Sex Transm Dis* ;29 :520-9.
- 107. Shoichet BK., McGovern SL., Wei B., Irwin JJ. (2002).** Lead discovery using molecular docking. *Curr. Opin.Chem. Biol*; 6 :439–446.
- 108. Shirley M., Scott MJ. (2017).** Isavuconazole: A Review in Invasive Aspergillosis and Mucormycosis.*ADIS DRUG EVALUATION*; 76(17): 1647-1657.
- 109. Siddiqui AJ., Khan MF., Hamadou MW., Goyal M., Jahan S., Arshad J., Syed AA., Sharma P, Sachidanandan M., Badraoui R., Chaubey KK., Snoussi M., Mohd A. (2021).** Molecular Docking and Dynamics Simulation Revealed Ivermectin as Potential Drug against Schistosoma-Associated Bladder Cancer Targeting Protein Signaling: Computational Drug Repositioning Approach.*Medicina (Kaunas)*; 57(10): 1058.
- 110. Skillman TG., Feldman JM. (1981).** The pharmacology of sulfonylureas. *Am J Med*; 70(2):361-72.
- 111. Stepanenko N., Wolk O., Bianchi E., Wright GJ., Schachter-Safrai N., Makedonski K., Ouro A., Meir AB., Buganim Y., Goldblum A. (2022).** In silico Docking Analysis for Blocking JUNO-IZUMO1 Interaction Identifies Two Small Molecules that Block in vitro Fertilization.*Front Cell Dev Biol*;5(10):824629.
- 112. Sterling T., Irwin JJ. (2015).** ZINC 15--Ligand Discovery for Everyone. *J. Chem. Inf. Model*; 55(11) :2324–2337.
- 113. Stringer E., Antonsen E. (2008).** Hormonal contraception and HIV disease progression. *HIV/AIDS*; 47: 945-951.
- 114. Swanson W., Vacquier V. (2002).** The rapid evolution of reproductive proteins. *Genetics* ;3 :137–144.

### T

- 115. Tebeka S., Airagnes G., Limosin F. (2017).** Antipsychotiques : quand et comment les prescrire ? Quand et comment prescrire des antipsychotiques ? *La Revue de Médecine Interne* ; 38(5) : 328-336.

**116. Thirumalai A., Page TS. (2018).** Recent developments in male contraception. Springer Nature Switzerland AG ; 1-10.

**117. Thirumalai A., Page TS. (2019).** Male hormonal contraception. *ARjats.cls* ; 13(9) : 8-15.

**118. Townsend JW., Sitruk-Ware R., Williams K., Askew I., Brill K. (2011).** Nouvelles stratégies pour fournir une contraception hormonale dans les pays en développement. *Contraception* 83 ; (5) : 405–409.

### V

**119. Valera-Vera AE., Sayé M., Reigada CH., Miranda MR., Pereira CA. (2019).** In silico repositioning of etidronate as a potential inhibitor of the *Trypanosoma cruzi* enolase. *Journal Pre-proof* ; 95 : 1-22.

**120. Valdes V., Labbok MH., Pugin E., et al. (2000).** The efficacy of the lactational amenorrhea method (LAM) among working women. *Contraception* ;62 :217–9.

**121. Verdonk ML., Cole JC., Hartshorn MJ., Murray CW., Taylor RD. (2003).** Improved Protein–Ligand Docking Using GOLD. *PROTEINS: Structure, Function, and Genetics*;52:609–623.

### W

**122. Wassarman PM., Luca J., Eveline SL. (2001).** A profile of fertilization in mammals. *Nature cell biology* ; 3 : 59-64.

**123. Wassarman MP. (2014).** Sperm protein finds its mate. *Nature*; 1-2.

**124. Wenping H., Auer J., Petit F., Patrat C., Pierre J. (2021).** Expression, structure and function analysis of the sperm-oocyte fusion genes JUNO and IZUMO1 in sheep (*Ovis aries*). *Journal of Animal Science and Biotechnologies al* ; 12 :37 : 2-18.

### Y

**125. Yanagimachi R., Yanagimachi H., Rogers BJ. (1976).** The use of zona-free animal ova as a test system for the assessment of the fertilizing capacity of human spermatozoa. *Biol Reprod* ; 15 : 471-6.

## Résumé

Les médicaments hormonaux combinés sont à la base de la contraception. Quoique efficaces, ils sont associés à des effets secondaires graves sur la santé des femmes. Le risque de ces effets peut être réduit par des petites molécules non hormonales qui ciblent spécifiquement les protéines impliquées dans la fécondation. Parmi elles figurent la protéine JUNO, qui forme un complexe avec IZUMO1 et est indispensable à la fécondation. L'objectif de notre travail est de rechercher parmi des médicaments disponibles et commercialisés, des molécules susceptibles de cibler JUNO afin d'inhiber cette interaction et donc empêcher la fécondation. Par une étude *in silico*, nous avons recensé 1615 molécules approuvées par la FDA, susceptibles d'interagir avec le domaine C-terminal de JUNO. Nous n'en avons retenu qu'une seule, le Biltricide, une molécule utilisée dans le traitement de la schistosomiase. En raison de son affinité de liaison avec JUNO et ses effets secondaires mineurs, elle pourrait être repositionnée dans le cadre d'une contraception non hormonale.

**Mots clés :** JUNO, contraception, hormonale, non hormonale, docking moléculaire, repositionnement des médicaments.

## Abstract

Combination hormonal drugs are the basis of contraception. Although effective, they are associated with serious side effects on women's health. The risk of these effects can be reduced by non-hormonal small molecules that specifically target proteins involved in fertilization. Among them is the protein JUNO, which forms a complex with IZUMO1 and is essential for fertilization. The objective of our work is to search among available and marketed drugs, molecules likely to target JUNO in order to inhibit this interaction and thus prevent fertilization. Through an *in-silico* study, we have identified 1615 FDA approved molecules that could interact with the C-terminal domain of JUNO. We selected only one, Biltricide, a molecule used in the treatment of Schistosomiasis. Because of its binding affinity to JUNO and minor side effects; it could be repositioned in the context of non-hormonal contraception.

**Keywords:** JUNO, contraception, hormonal, non-hormonal, molecular docking, drug repositioning.

## ملخص

الأدوية الهرمونية المركبة هي أساس طرق منع الحمل. على الرغم من فعاليتها، إلا أنها تسبب آثار جانبية خطيرة على صحة المرأة. يمكن تقليل هذه المخاطر عن طريق استعمال جزيئات غير هرمونية تستهدف على وجه التحديد البروتينات المشاركة في الإخصاب. من بينها بروتين JUNO، الذي يشكل مركبًا مع IZUMO1 وهو ضروري للتخصيب. الهدف من عملنا هو البحث بين الأدوية المتاحة والمسوقة عن الجزيئات التي من المحتمل أن تستهدف JUNO من أجل منع هذا التفاعل وبالتالي منع الإخصاب. من خلال دراسة تعتمد على الالتحام الجزيئي، حددنا 1615 جزيئًا معتمدًا من قبل FDA، ومن المحتمل أن تتفاعل مع المجال الطرفي C لـ JUNO. لقد احتفظنا بواحد فقط، وهو جزيء Biltricide، والذي يستخدم في علاج داء البلهارسيا. نظرًا لارتباطه بـ JUNO وآثاره الجانبية الطفيفة، يمكن إعادة وضعه كجزء من وسائل منع الحمل غير الهرمونية.

**الكلمات المفتاحية:** JUNO، منع الحمل، هرموني، غير الهرموني، الالتحام الجزيئي، إعادة وضع الأدوية.