

# Criblage enzyme-ligand : la spectrométrie de masse comme outil d'investigation

Professeur **Benoît MAUNIT**

ICOA Institut de Chimie Organique et Analytique, UMR 7311, CNRS, Université d'Orléans, F-45067 Orléans, France

Bien que les méthodes de criblage concernant les interactions enzyme/ligand soient développées, la recherche de nouvelles approches rapides, robustes et fiables reste d'intérêt pour la recherche actuelle. L'objectif principal de ce travail consiste à développer de nouvelles méthodologies de criblages de molécules bioactives basées sur la Spectrométrie de Masse (MS).

Une première approche de nos recherches, dans le domaine cosmétique, s'est focalisée sur l'étude d'inhibiteurs de l'enzyme tyrosinase par désorption-ionisation laser assistée par matrice (MALDI). Les approches « Ion Fading » (IF) et « Ion Hunting » (IH), basées sur l'adsorption et la pré-concentration d'inhibiteurs, montrent le potentiel de l'utilisation d'enzymes immobilisées sur billes magnétiques qui ouvre des perspectives pour l'étude d'interactions spécifiques entre enzymes et inhibiteurs par analyse MALDI-TOF MS. L'efficacité de cette technique sera présentée à travers l'étude des interactions tyrosinase-glabridine puis portée par l'étude d'un extrait de plante (*Sparrmannia discolor*).

Un autre volet de recherche concerne le criblage de substrats spécifiques à l'enzyme invertase (carbohydrates). Une méthodologie innovante basée sur le couplage TLC-UV@MALDI-TOF MS a été développée afin d'identifier rapidement et de caractériser spécifiquement les potentiels substrats de l'invertase présents dans différents extraits de plantes. Une analyse quantitative par TLC-UV a été optimisée afin de mettre en évidence les substrats et les produits de la réaction. Des analyses par TLC@MALDI-TOF MS permettent alors de caractériser plus spécifiquement chaque molécule impliquée. La complémentarité de l'ensemble des techniques TLC et MALDI/MS en font des outils de tout premier ordre pour la réalisation d'études rapides et fiables concernant la mise en évidence d'interactions spécifiques enzyme-inhibiteur et/ou enzyme-substrat.

Pour finir, ces interactions enzyme-ligand ont notamment été étudiées à travers le suivi de phosphorylation de molécules antirétrovirales. Certains nucléosides ont été montrés très efficaces dans la lutte contre le VIH. L'intérêt de notre étude concerne la capacité de ces molécules à être tri-phosphorylées afin de stopper la réplication de l'ADN viral.