

#### ABSTRACT

During the last decades, microtubules and tubulin have been extensively studied for their properties during mitosis, or for the control of cell shape and motility. They are a well known proteic hub for several proteins, which finely regulate its assembly and disassembly, use it as a rail to move molecular containers or as cellular skeleton. Moreover, they are a target of choice in cancer chemotherapy to prevent cell division, thus reducing their proliferation. NFL-TBS.40-63, a 24 amino acid peptide corresponding to the tubulin binding site located on the light neurofilament subunit, has been identified, *in vitro* and *in vivo*, for its characteristics to enter specifically glioma cells and disrupt microtubule network, leading cancer cells to apoptosis. Without molecular information on this interaction, it is difficult to address the mechanism underlying the inhibition of microtubule assembly.

During my thesis, I used three-dimensional prediction tools, molecular dynamics simulations and docking calculations in order to provide molecular clues regarding the structure and stability of NFL-TBS.40-63 and its binding modes on the tubulin. These experiments strongly suggest a specific binding site located on the outer side of the microtubule, near the disordered Carboxy terminal tail of the  $\beta$ -subunit of the tubulin. Due to the absence of the Carboxy terminal tails in the structures obtained from experimental methods, I modeled two human tubulin isotypes,  $\alpha I/\beta I$  and  $\alpha I/\beta III$ , in order to study the different behavior of the Carboxy terminal tails and their potential interaction with NFL-TBS.40-63. Carboxy terminal tails are responsible for most of the sequence divergence between isotypes and are targets for many post translational modifications. Data obtained suggest that the  $\alpha I/\beta I$  isotype can form contacts with the binding site of NFL-TBS.40-63, thus making this isotype potentially less sensitive to inhibition compared to the  $\alpha I/\beta III$  isotype, that is overexpressed in glioma cells. This can be an insight for the selectivity of NFL-TBS.40-63 for glioma cells, and for a better understanding of treatment resistance induced by the enrichment of the cancer cells in  $\beta III$  isotype.

#### RÉSUMÉ

Pendant les dernières décennies, les microtubules et la tubuline ont été considérablement étudiés pour leurs fonctions durant la mitose, ou pour contrôler la forme des cellules et leur mobilité. Ce sont des "hub" protéiques bien connus, dont de nombreuses protéines régulent finement l'assemblage et le démantèlement, les utilisent comme des rails pour déplacer des cargos cellulaires ou encore s'y ancrent comme sur un squelette cellulaire. Ils sont également des cibles de choix dans les traitements des cancers pour prévenir la division cellulaire, limitant ainsi la prolifération des cellules pathogènes. NFL-TBS.40-63, un peptide de 24 acides aminés qui correspond à un site de liaison à la tubuline localisé sur le neurofilament léger, a été identifié, *in vitro* et *in vivo*, comme un agent qui pénètre spécifiquement dans les cellules gliales et perturbe le réseau de microtubules. En l'absence de données moléculaires sur cette interaction, il est difficile de comprendre le mécanisme qui régit cette perturbation.

Pendant ma thèse, j'ai utilisé des outils de prédiction structurale, des simulations de dynamique moléculaire et des calculs d'amarrage moléculaire afin de fournir des informations au niveau moléculaire concernant la structure et la stabilité du peptide NFL-TBS.40-63 et son interaction avec la tubuline. Ces expérimentations suggèrent fortement un site de liaison spécifique localisé sur la partie extérieure du microtubule, proche de l'extrémité Carboxy terminale (C-ter) de la sous-unité  $\beta$  de la tubuline. En l'absence de données expérimentales sur les extrémités C-ter, j'ai modélisé deux isotypes de la tubuline humaine,  $\alpha I/\beta I$  et  $\alpha I/\beta III$ , afin d'étudier les différences de comportement de ces C-ter, qui sont responsables des principales divergences de séquence entre isotypes et sujettes à des modifications post-translacionnelles, et leur interaction potentielle avec le peptide NFL-TBS.40-63. Les données obtenues suggèrent que l'isotype  $\alpha I/\beta I$  peut entrer en contact avec le site de liaison précédemment trouvé, ce qui le rendrait possiblement moins sensible aux perturbations, comparativement à l'isotype  $\alpha I/\beta III$ , qui est surexprimé dans les cellules cancéreuses. Ces résultats nous donnent un premier aperçu du mécanisme concernant la sélectivité du peptide NFL-TBS.40-63 pour ces cellules, mais pourraient également permettre de mieux comprendre les phénomènes de résistance aux traitements antitumoraux associés à la présence de l'isotype  $\beta III$  dans les cellules cancéreuses.