



## **Les interactions enzyme/ligand : Stratégies d'études basées sur la spectrométrie de masse**

Benoît Maunit

Université Orléans, CNRS, ICOA, UMR 7311, F-45067 Orléans, France

La recherche de nouvelles approches de criblage rapides, robustes et fiables pour l'étude des interactions enzyme/ligand est en plein essor.

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. Les approches « Ion Fading -IF » et « Ion Hunting -IH », basées sur l'adsorption et la pré-concentration d'inhibiteurs, montre 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'extraits de plante (*Glycyrrhiza glabra*, *sparmannia 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 enzymes-inhibiteur et/ou enzyme-substrat.

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. Les interactions enzyme-ligand ont notamment été étudiées par U-HPLC-HRMS à travers le suivi de phosphorylation de molécules antirétrovirales endogènes et issues de synthèse.