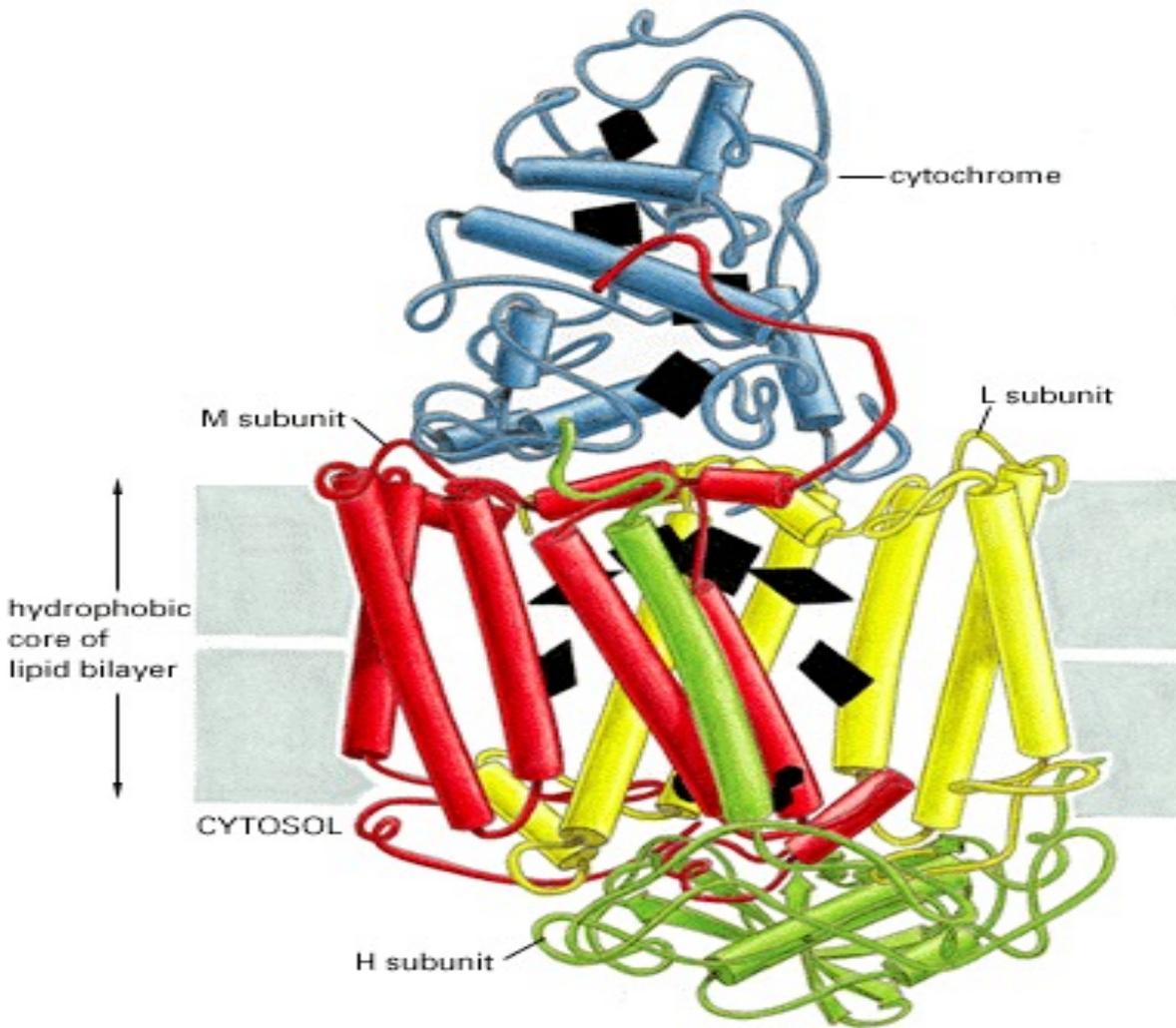


conformation des protéines membranaires dans la membrane

- Détermination de la structure au niveau atomique (en détergent, en nanodiscs): RX / microscopie électronique
- Alphafold
- Topologie des protéines membranaires dans la membrane

La structure des protéines membranaires intégrales

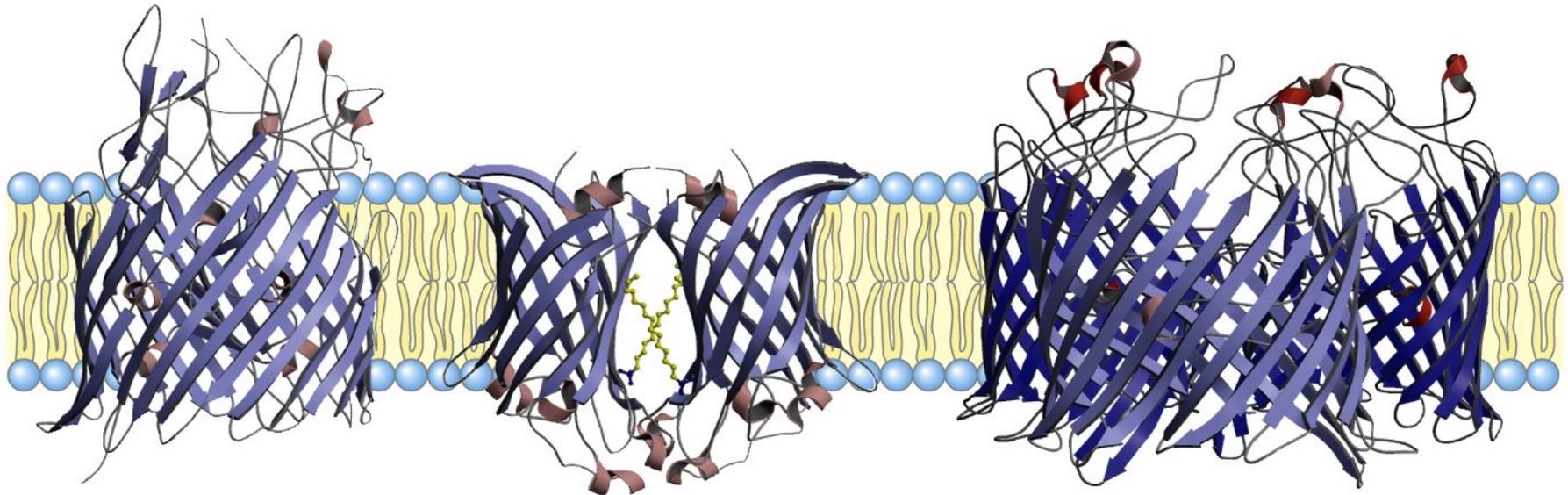
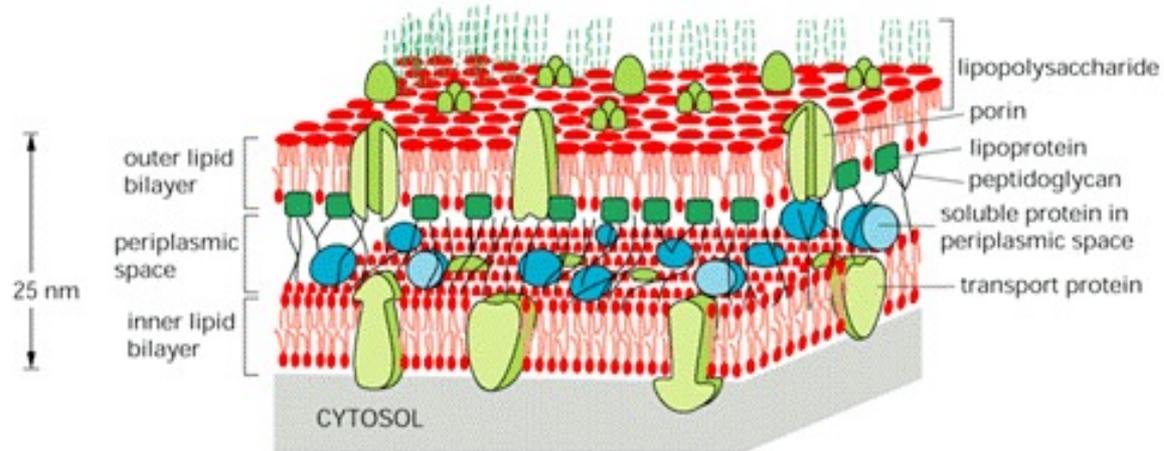


Pas de structures désordonnées traversant la membrane

Hélice α transmembranaires d'environ 20 à 30 résidus

Prédominance d'acides aminés à chaînes latérales hydrophobes

Cas des protéines intégrales de la membrane externe des mitochondries, des chloroplastes ou des bactéries à Gram négatif



FepA

OmpLA

Maltoporin

conformation des protéines membranaires dans la membrane

- Détermination de la structure au niveau atomique (en détergent): RX ou microscopie électronique
- Topologie des protéines membranaires dans la membrane

La topologie des protéines membranaires intégrales:

C'est quoi la topologie ?

Comment peut on la déterminer ?

Détermination de la topologie des protéines membranaires intégrales:

- *In silico*:

Le profil d'hydrophobicité

- Méthodes expérimentales:

Le plus souvent sur **vésicules membranaires**

- Glycosylation
- Protéines rapportrices à activité enzymatique (Phosphatase alcaline, β -galactosidase)

Le Profil d'hydrophobicité

C'est une représentation graphique qui permet de repérer des régions « riches » en acides aminés hydrophobes

puis

de faire une prédiction sur la position des segments transmembranaires de la chaîne polypeptidique

Bases théoriques de l'algorithme:

- Les segments transmembranaires en hélice α sont riches en acides aminés hydrophobes
- La répartition de ces acides aminés hydrophobes ne devrait donc pas être similaire à celle qui prévaut dans les protéines solubles.
- Les acides aminés hydrophobes devraient être regroupés dans certaines régions de la chaîne polypeptidique
- Ces régions ou « clusters » devraient être constituées de 20 à 30 résidus environ (épaisseur de la membrane)

Comment identifier les régions
contenant majoritairement des acides
aminés hydrophobes ?

**Quantifier le caractère hydrophobe
des acides aminés**

Tracer le profil d'hydrophobicité

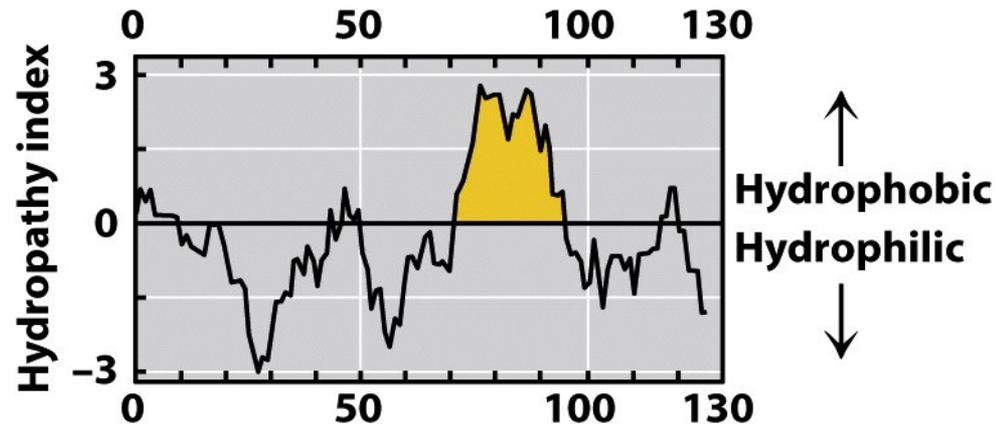
Indice d'hydrophobicité, échelle de Kyte et Doolittle

AMINO ACID

HYDROPATHIC INDEX

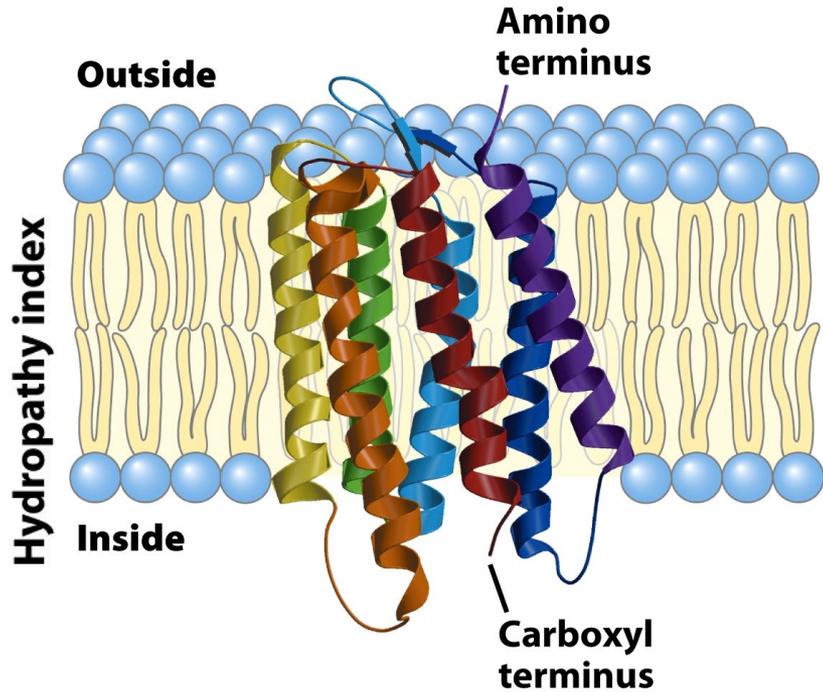
Isoleucine	4.5
Valine	4.2
Leucine	3.8
Phenylalanine	2.8
Cysteine/cystine	2.5
Methionine	1.9
Alanine	1.8
Glycine	-0.4
Threonine	-0.7
Tryptophan	-0.9
Serine	-0.8
Tyrosine	-1.3
Proline	-1.6
Histidine	-3.2
Glutamic Acid	-3.5
Glutamine	-3.5
Aspartic Acid	-3.5
Asparagine	-3.5
Lysine	-3.9
Arginine	-4.5

Comment tracer le profil d'hydrophobicité d'une protéine ?



Une manière de visualiser des régions riches
en acides aminés hydrophobes

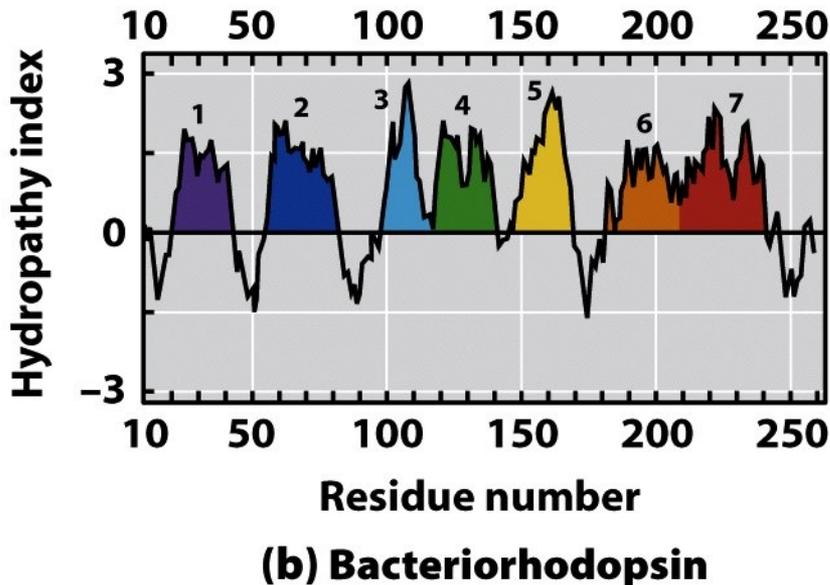
Notion de fenêtre



Les prédictions
sont **souvent** correctes

mais pas **toujours** !!!!

Figure 11-9
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company



↑
Hydrophobic
Hydrophilic
↓

La précision est parfois
limitée
(boucles extra-membranaires
très courtes)

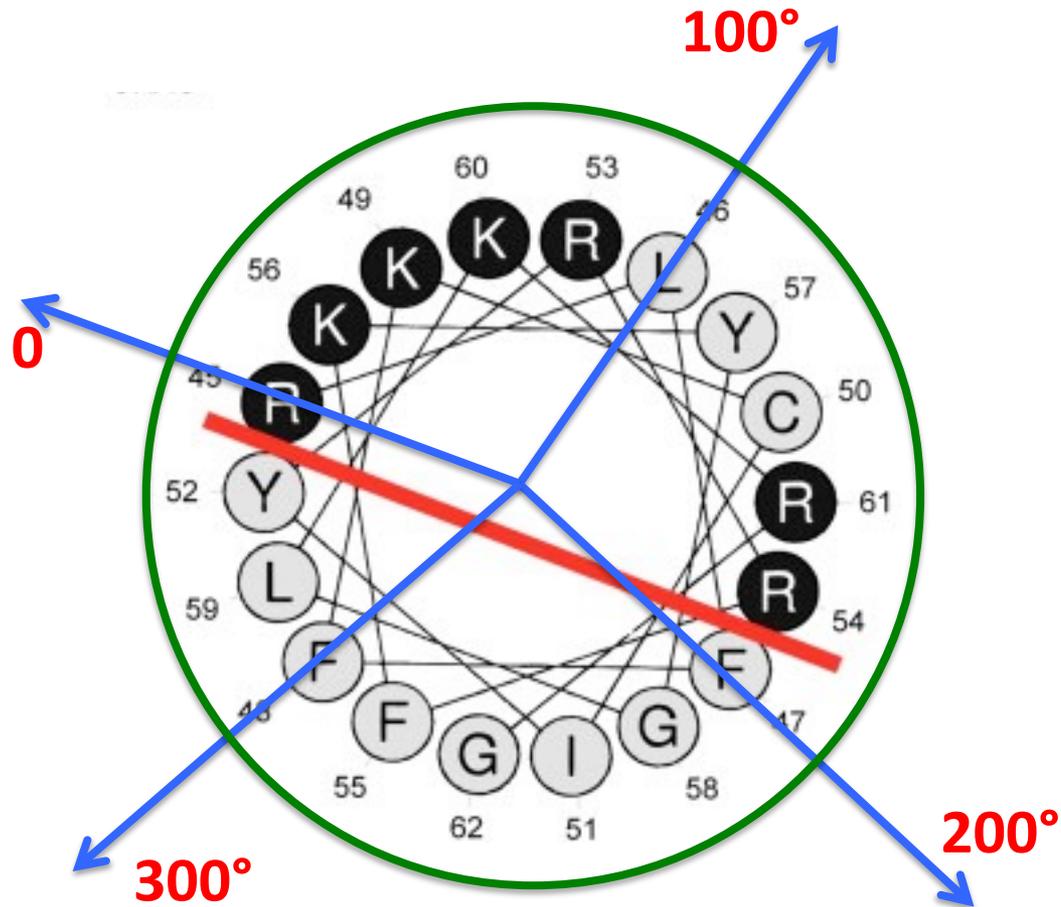
Ce qu'on peut faire et ne pas faire avec un profil d'hydrophobicité

- Permet de prédire uniquement la position des hélices α transmembranaires
- Utile pour identifier les protéines membranaires à partir des données de génomique
- Ne permet pas de prédire les brins β amphipatiques d'un tonneau β
- Ne permet pas d'orienter la protéine dans la membrane
- Ne permet pas de positionner les hélices les unes par rapport aux autres

Notion d'hélices membranaires amphipatiques

- Face hydrophobe
- Face hydrophile

Représentation en roue hélicoidale des segments transmembranaires



Notion d'hélices amphipatiques: permet d'affiner la topologie

Autres méthodes pour faire des prédictions de Topologie

- Glycosylation
 - Protéines rapporteur à activité enzymatique (Phosphatase alcaline, β -galactosidase)
- Accessibilité aux anticorps, aux protéases (cf TD membrane 2)

Glycosylation

- Certaines protéines sont glycosylées
- La glycosylation des protéines eucaryotes se fait dans le golgi: sur aa d'un segment protéique qui sera topologiquement à l'extérieur de la cellule

Glycosylation

- La connaissance des aa glycosylés nous apporte donc une information topologique
- On peut exploiter l'existence de sites « consensus » de glycosylation pour tester d'autres positions dans la chaîne polypeptidique

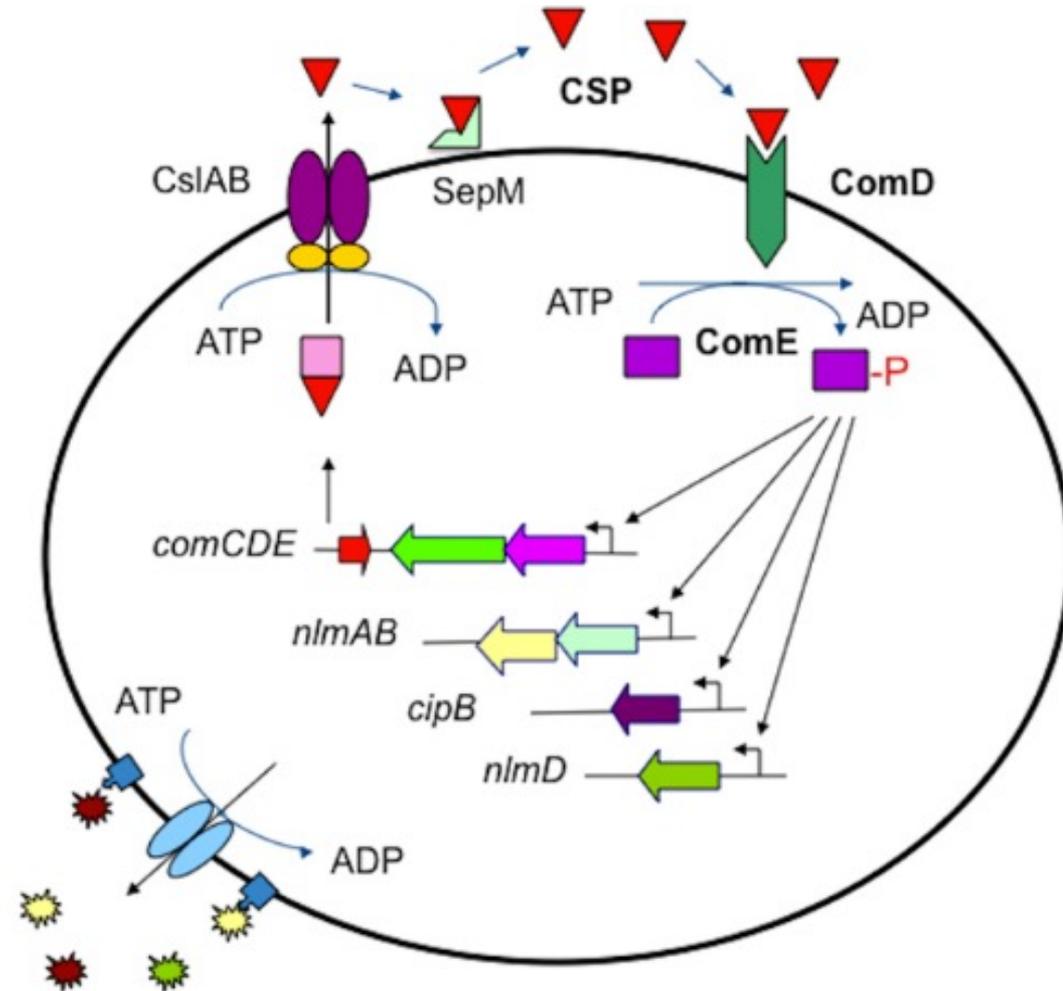
Fusion de gène

SCIENTIFIC REPORTS

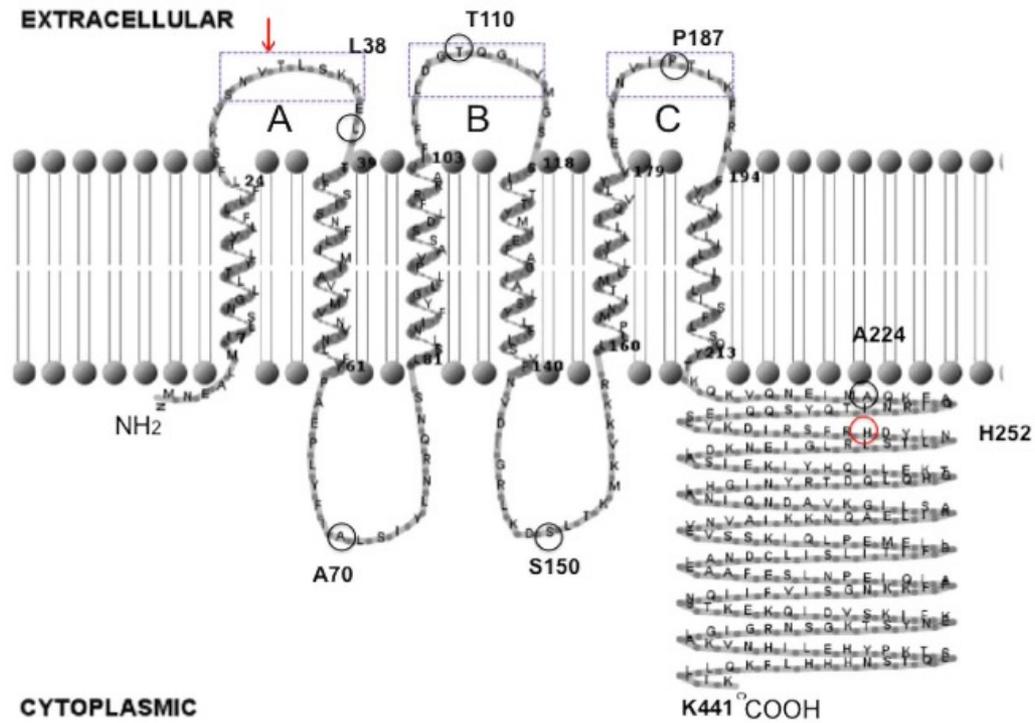
OPEN Membrane Topology and Structural Insights into the Peptide Pheromone Receptor ComD, A Quorum-Sensing Histidine Protein Kinase of *Streptococcus mutans*

Received: 29 December 2015
Accepted: 03 May 2016
Published: 20 May 2016

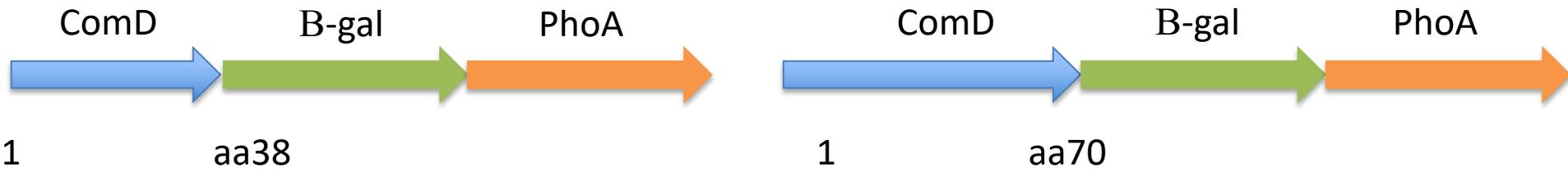
Gaofeng Dong^{1,4}, Xiao-Lin Tian^{1,4}, Kayla Cyr¹, Tianlei Liu¹, William Lin², Geoffrey Tziolas² & Yung-Hua Li^{1,2}

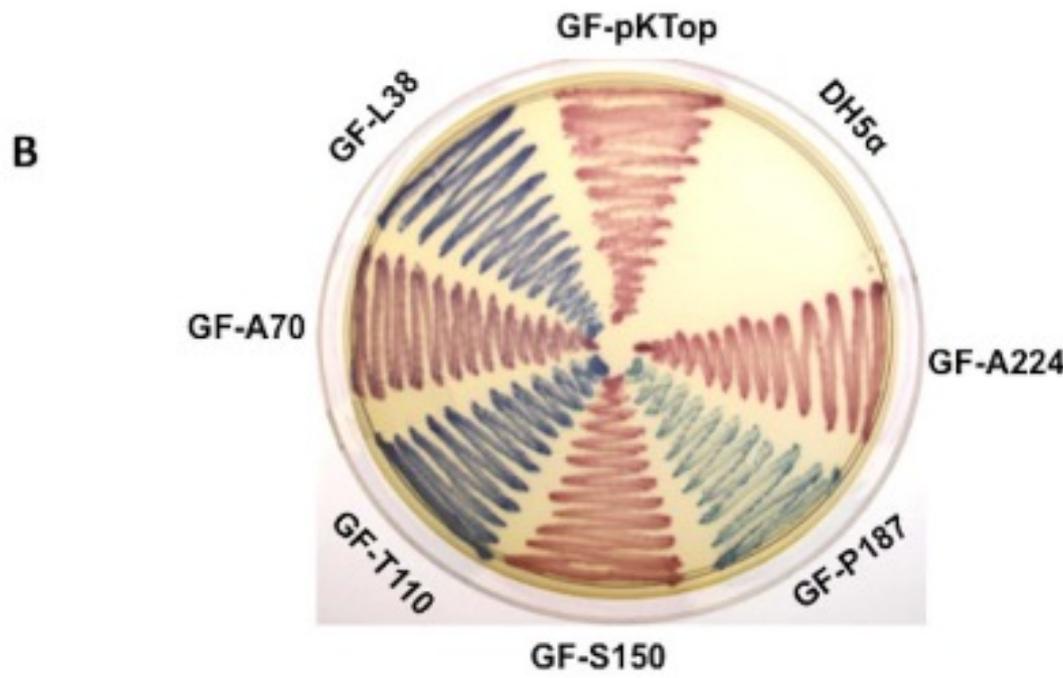
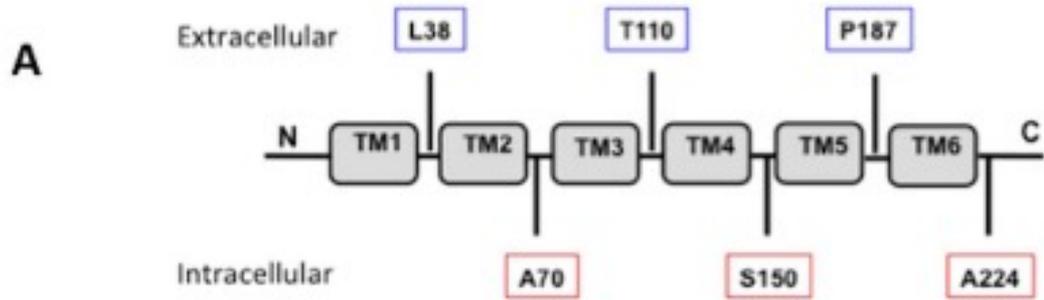


Modèle topologique de ComD (profil d'hydrophobicité)



Exemples de protéines de fusion:





La phosphatase alcaline est active dans le périplasm
 Elle n'est pas active dans le cytosol (pH trop acide)

La β -Galactosidase est active dans le cytosol
 Elle n'est pas active dans le périplasm (mauvais repliement)

Les substrat de PhoA (X-Phos) et de la β -Gal (Red-Gal) sont présents dans la boite de pétri

Biochimie Membranaire

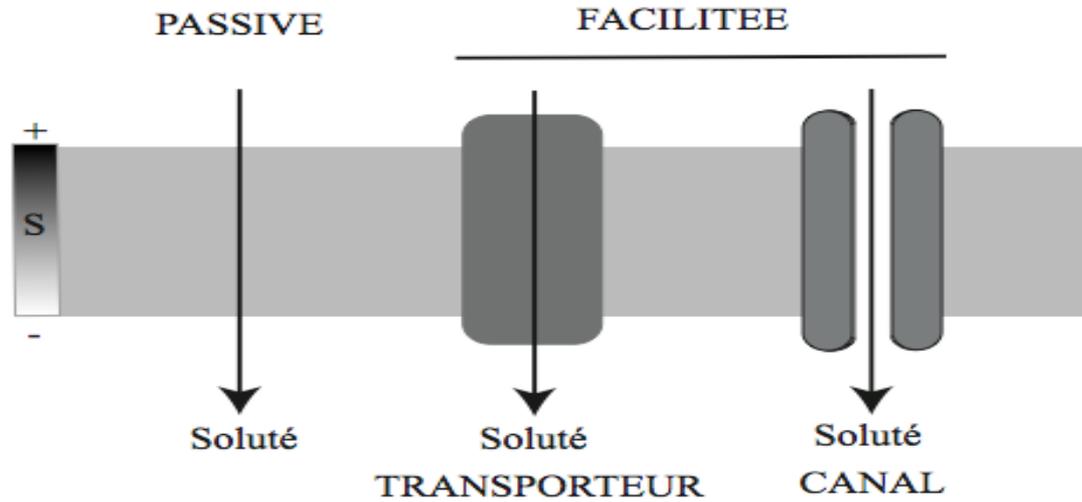
Introduction - Rôles et importance des membranes biologiques

1- Lipides et protéines membranaires / dynamique membranaire

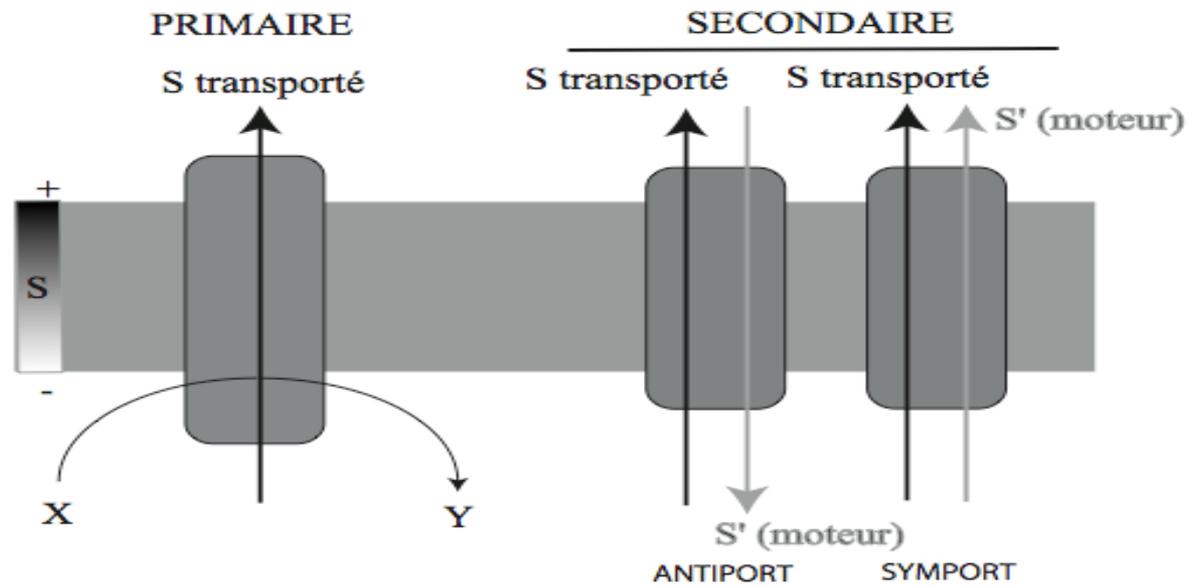
2- Etude expérimentale des protéines membranaires

 3- Principaux canaux et transporteurs: Etudes « structure-fonction »

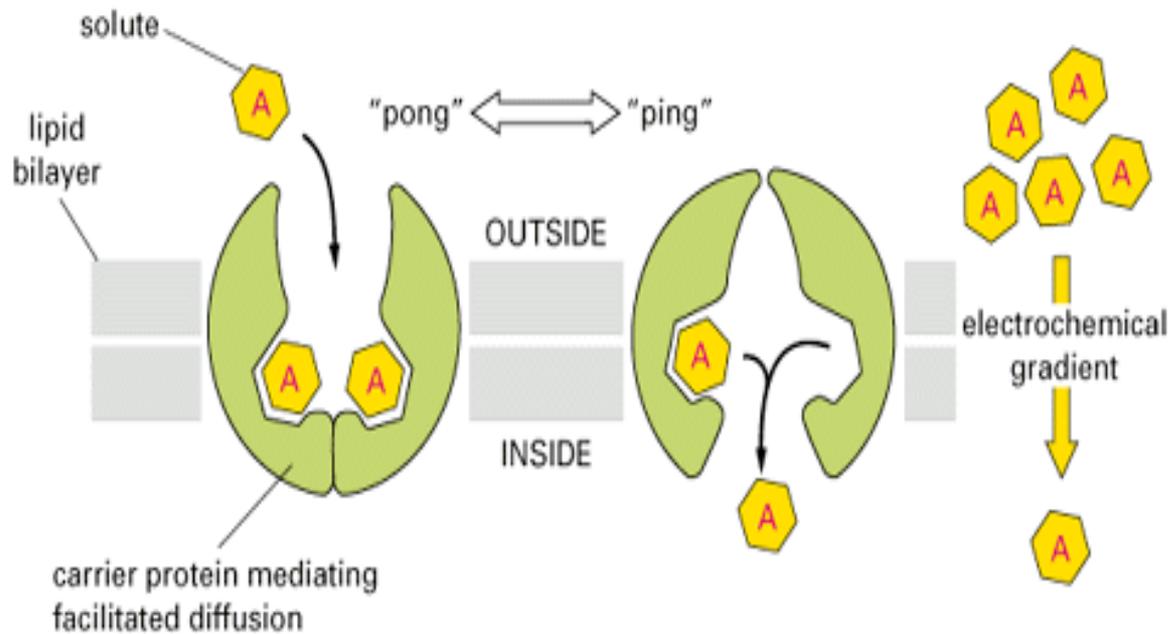
DIFFUSION



TRANSPORT ACTIF

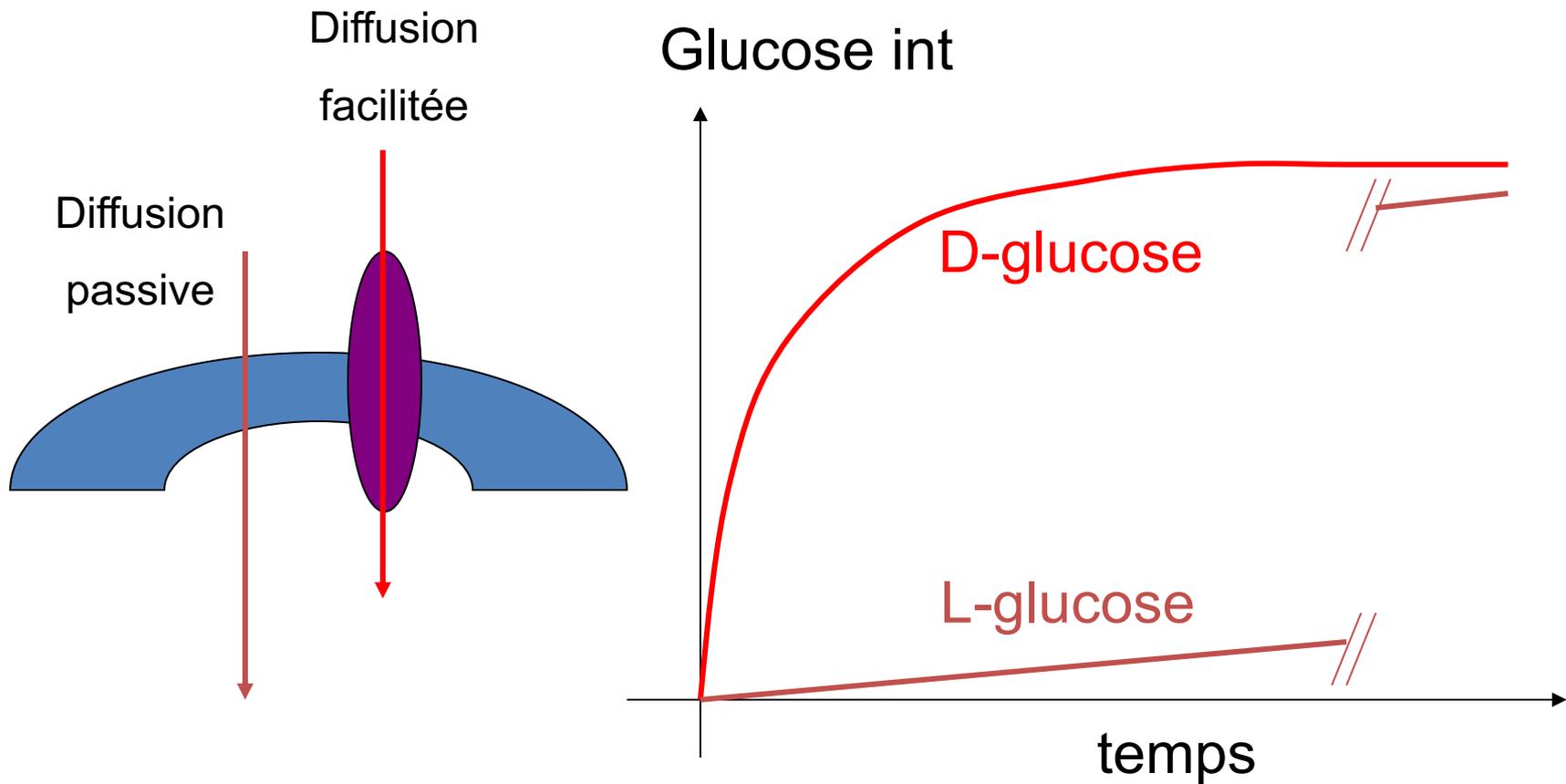


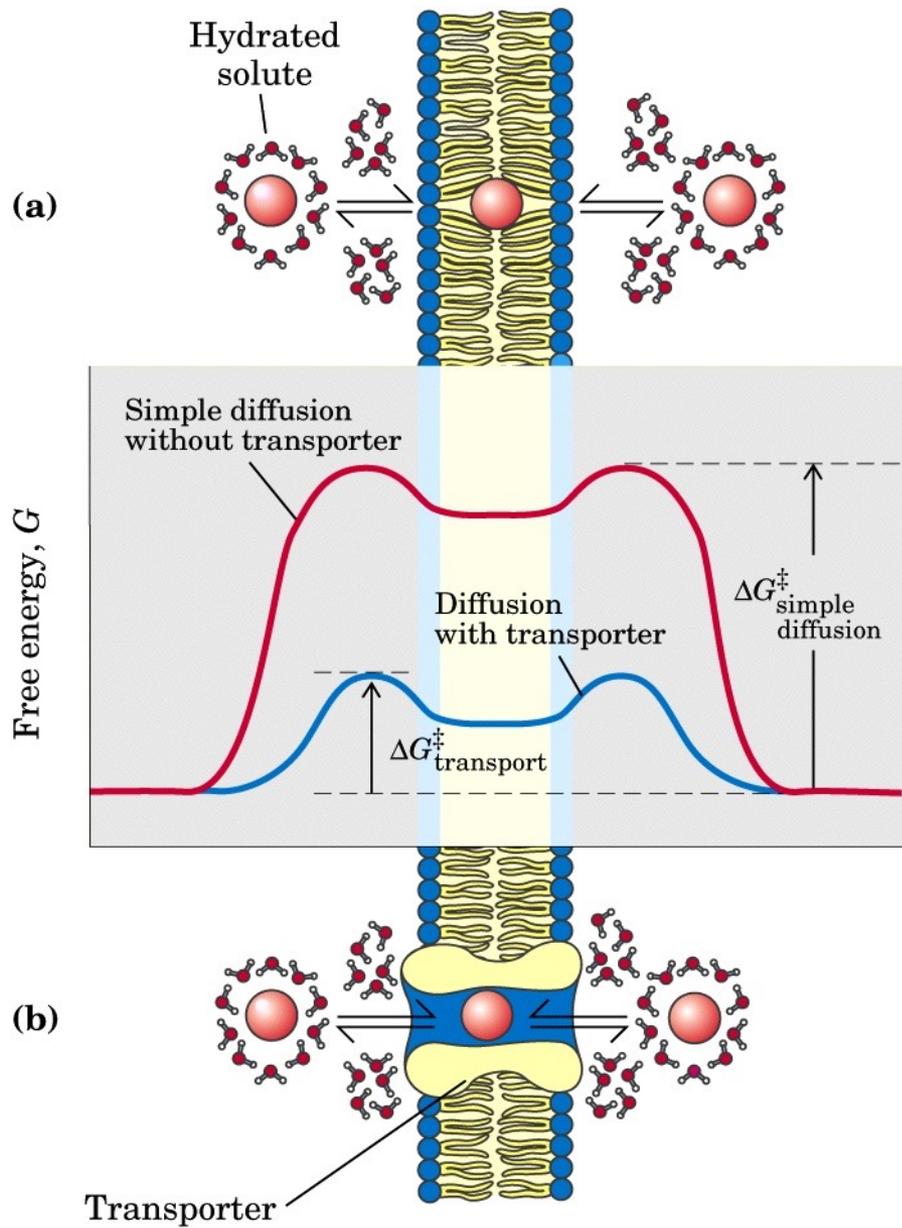
Les transporteurs



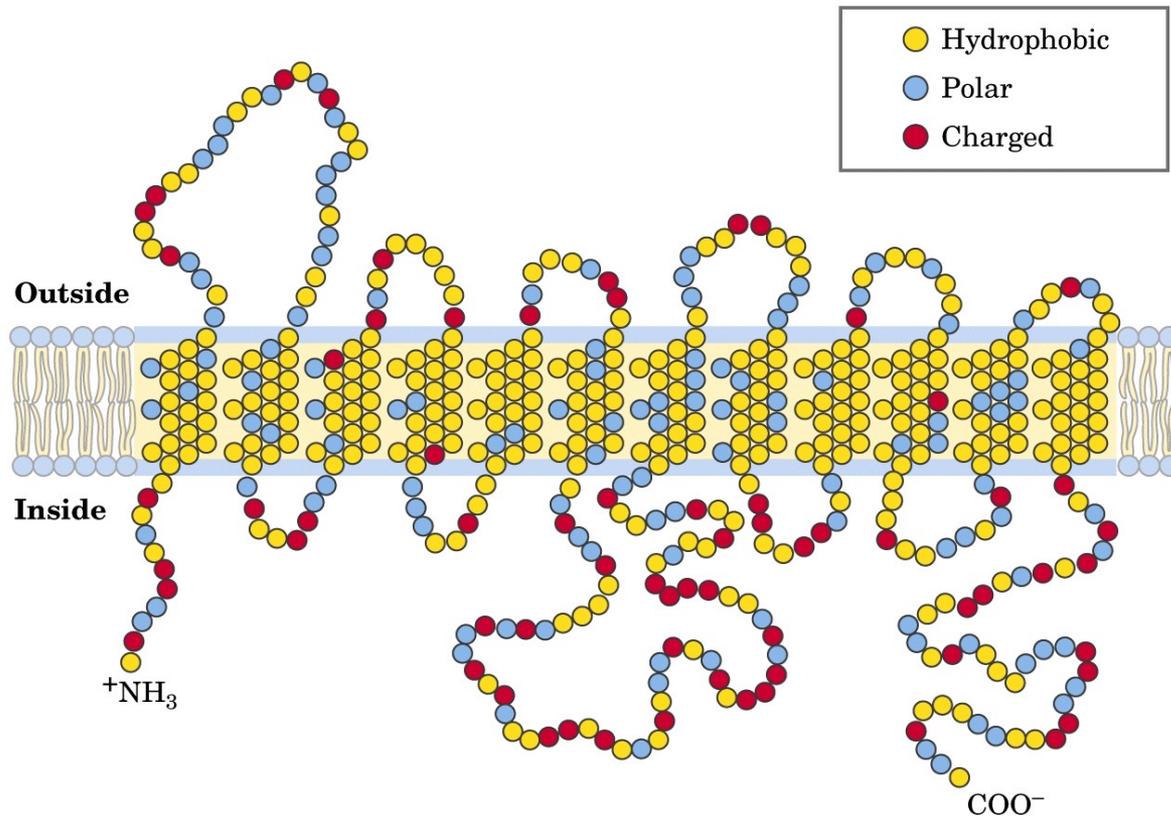
Exemple du Transport du Glucose

Diffusion du D- et du L-glucose



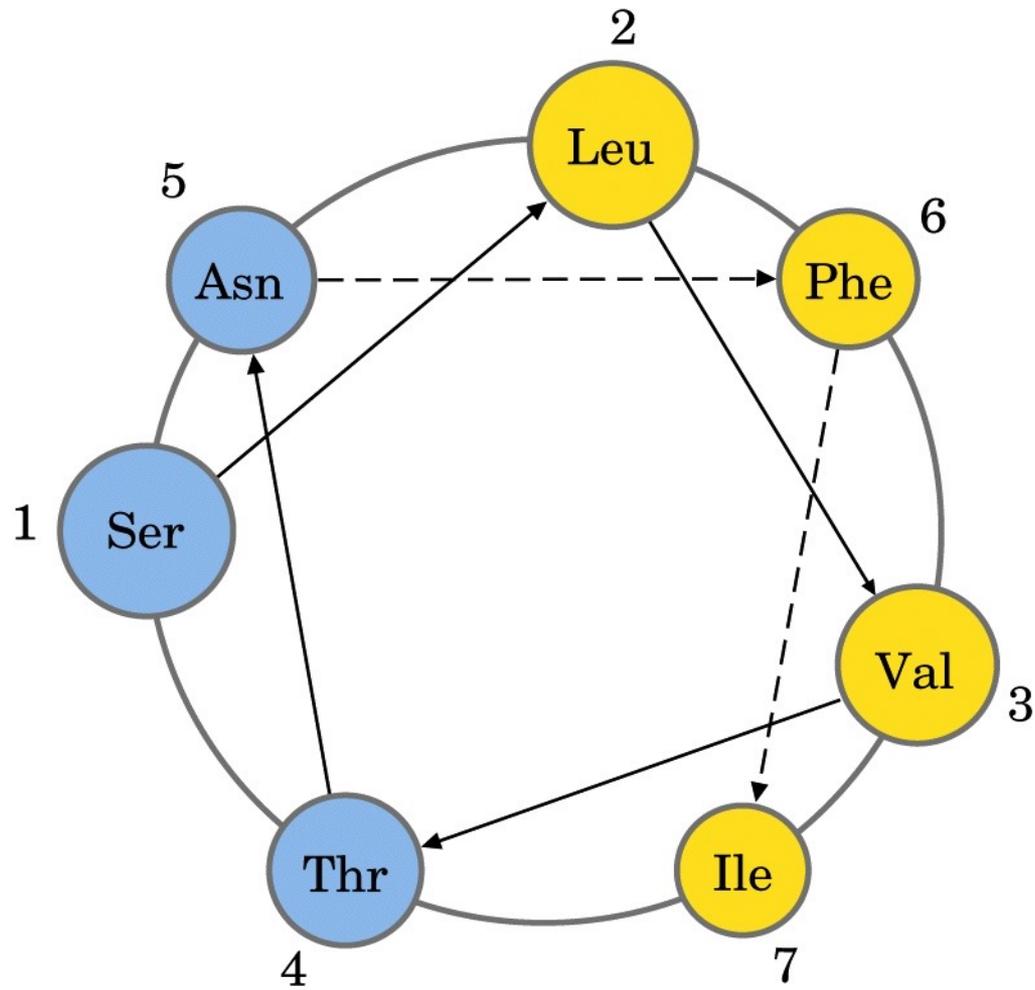


Transporteurs GluT

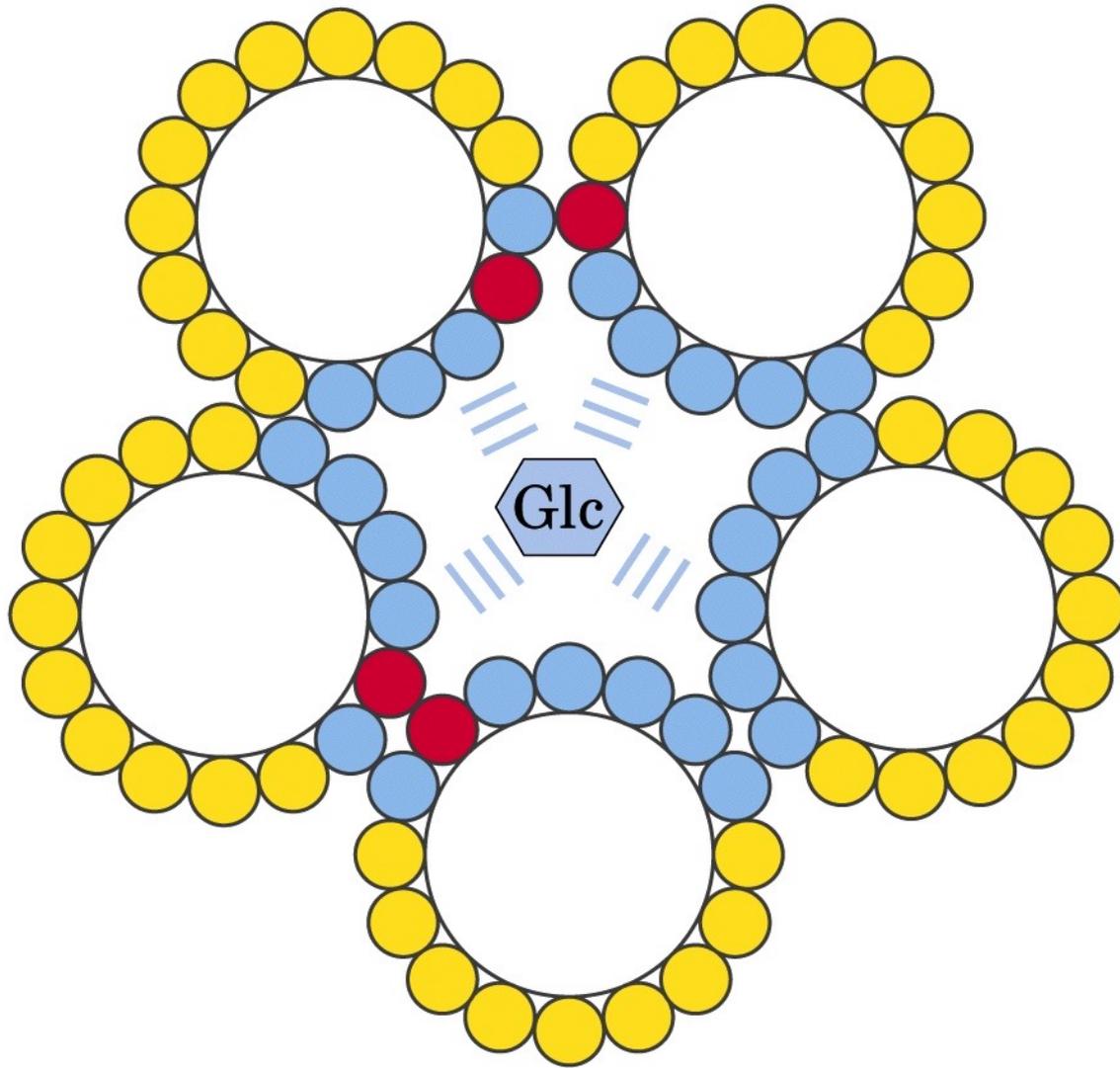


(a)

–Ser–Leu–Val–Thr–Asn–Phe–Ile–

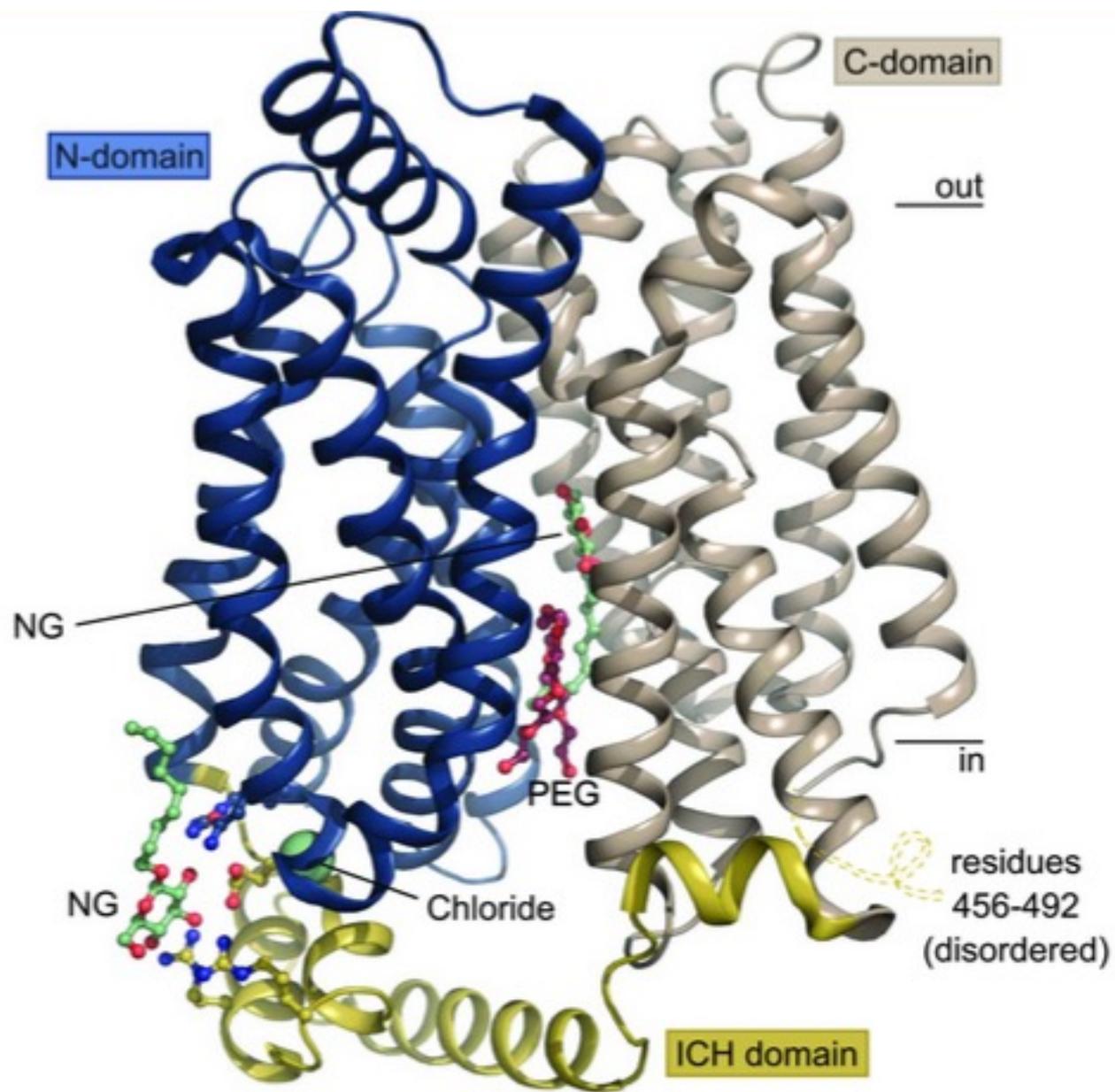


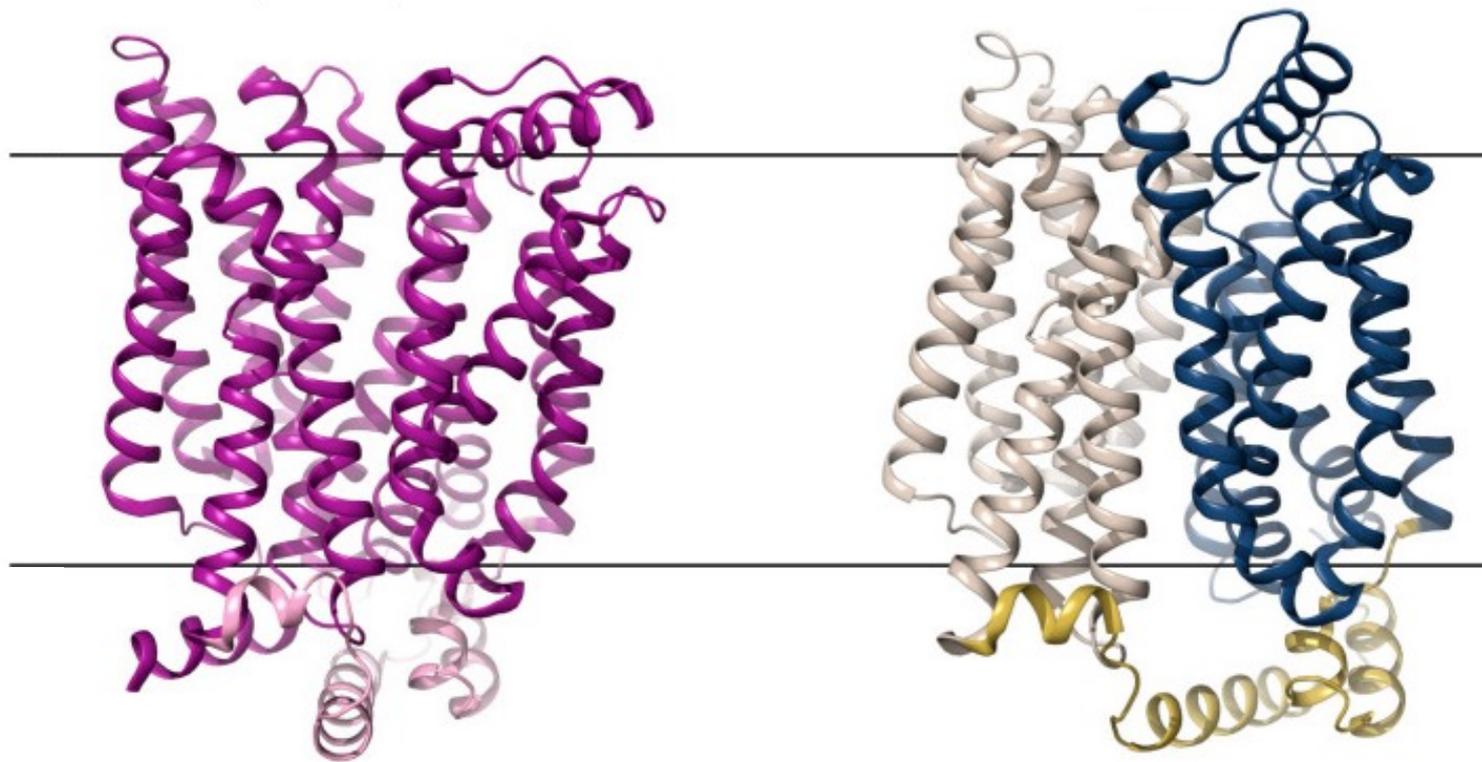
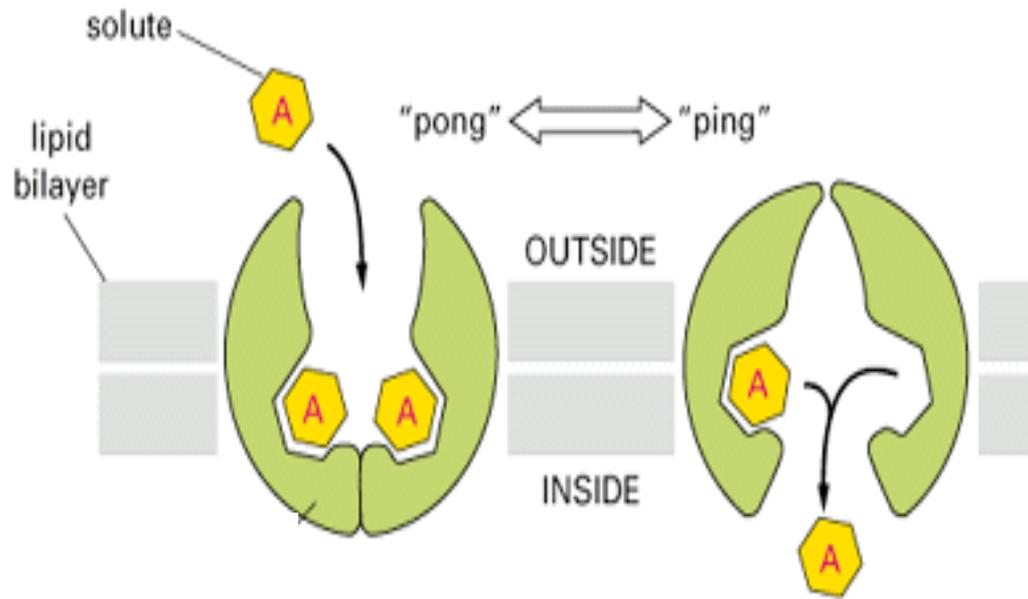
(b)



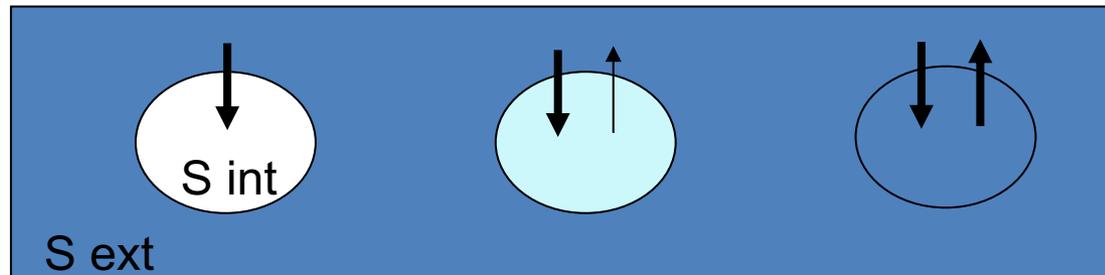
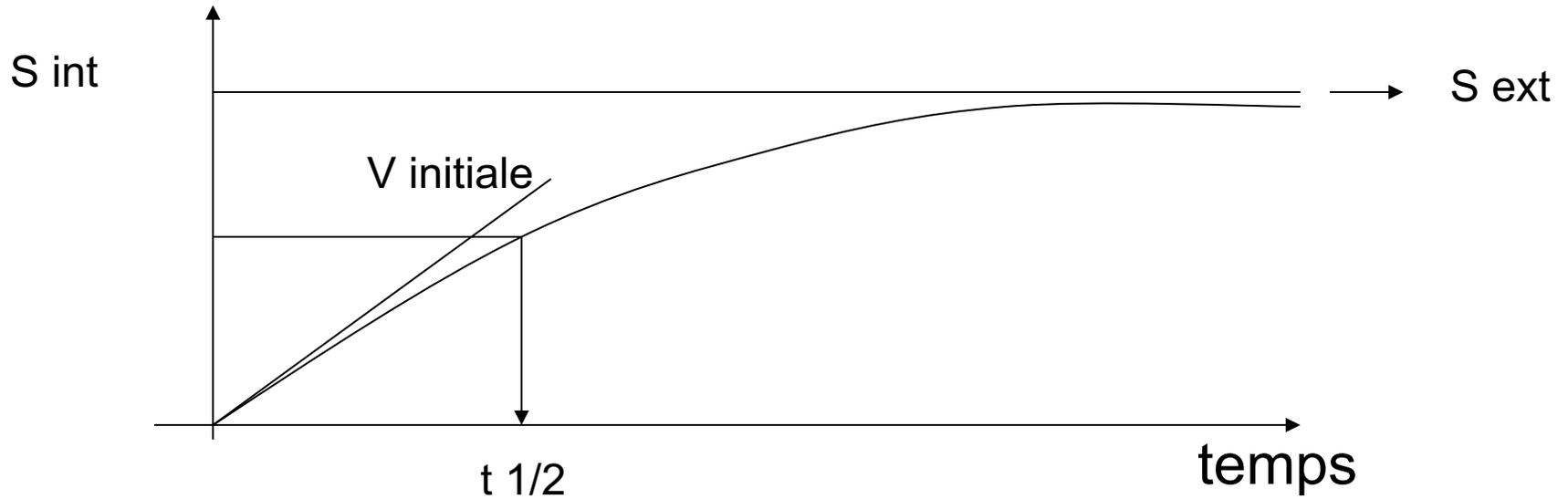
(c)

A

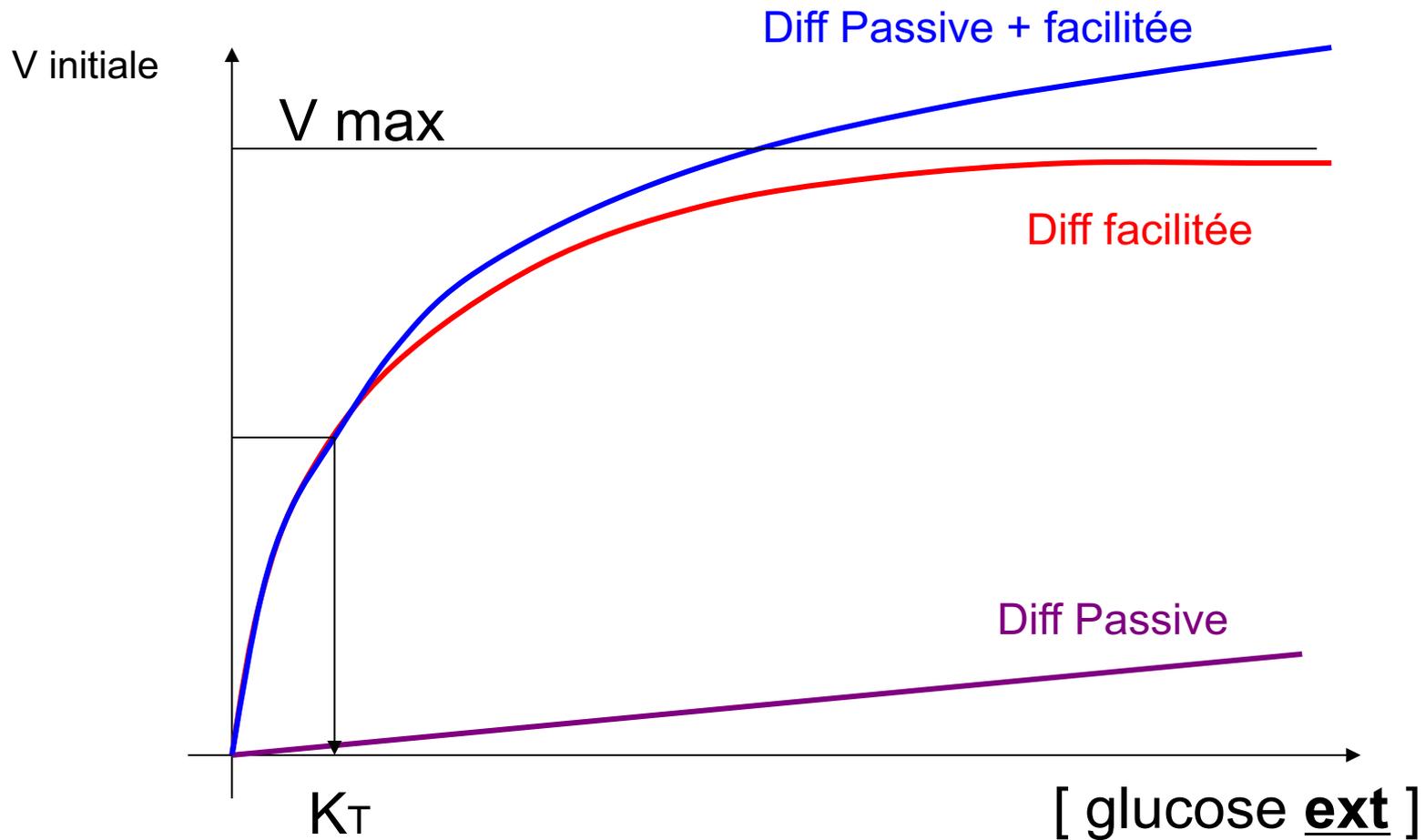




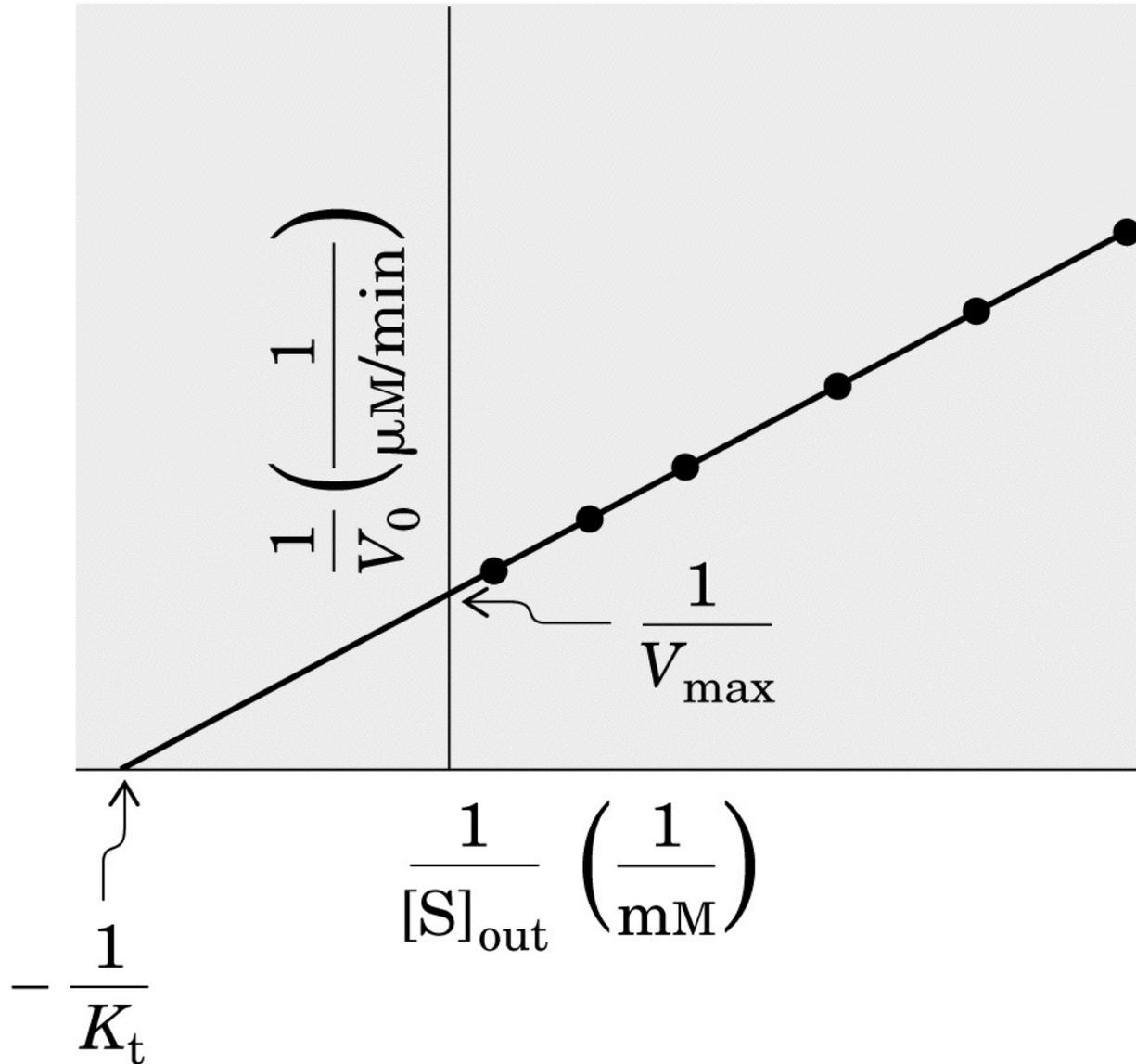
Caractéristiques cinétiques des transporteurs



Deux paramètres cinétiques importants: Vitesse maximale et Constante de transport

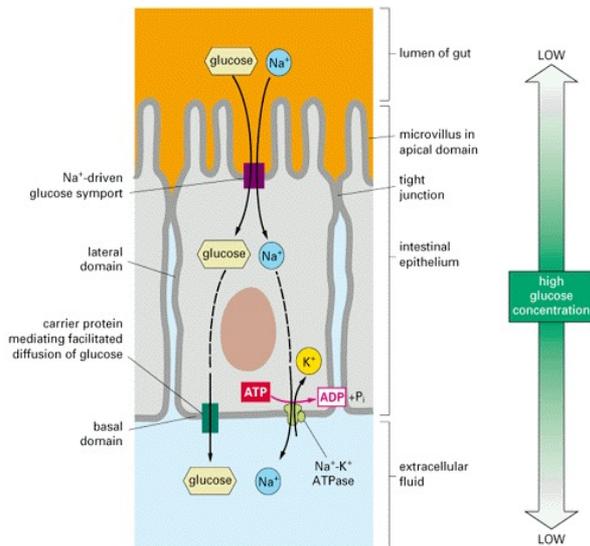
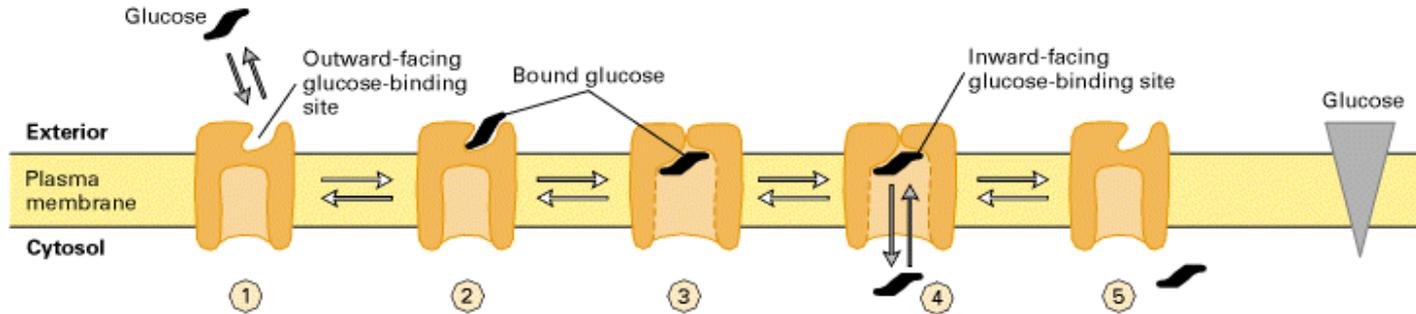


Détermination graphique de V_{\max} et K_t



Transport du glucose dans l'organisme:

Le sens du transport dépend **uniquement** du gradient de concentration de glucose



La plupart des cellules: sang → cellule

Foie: cellule → sang si tx sanguin diminue

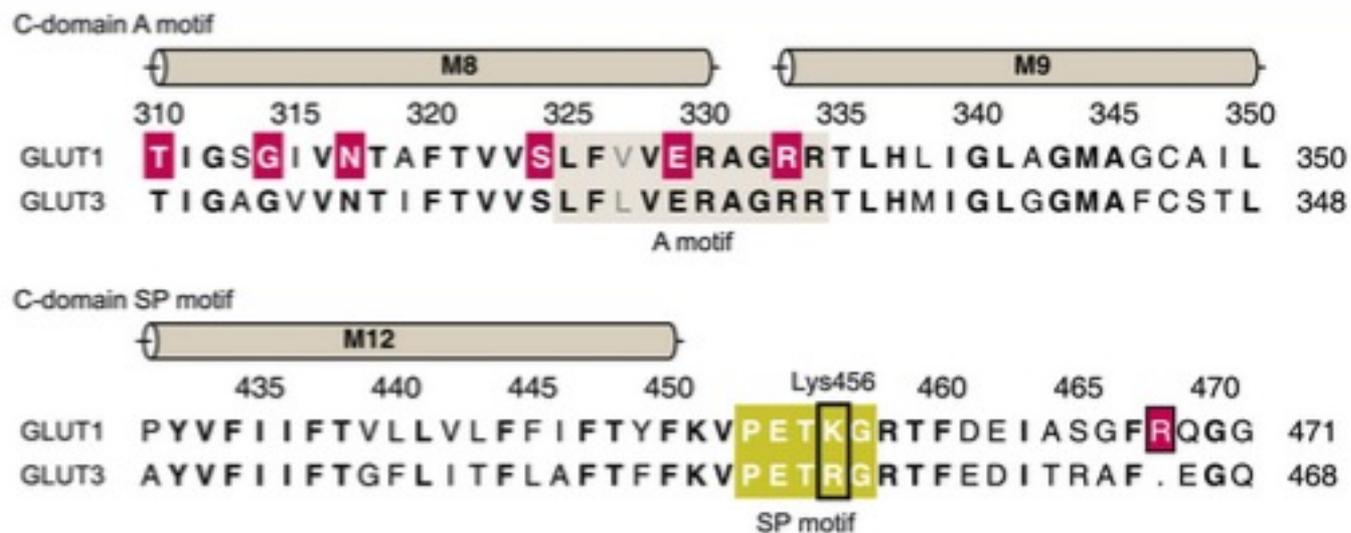
Cellule intestinale: cellule → sang

Les transporteurs GluT

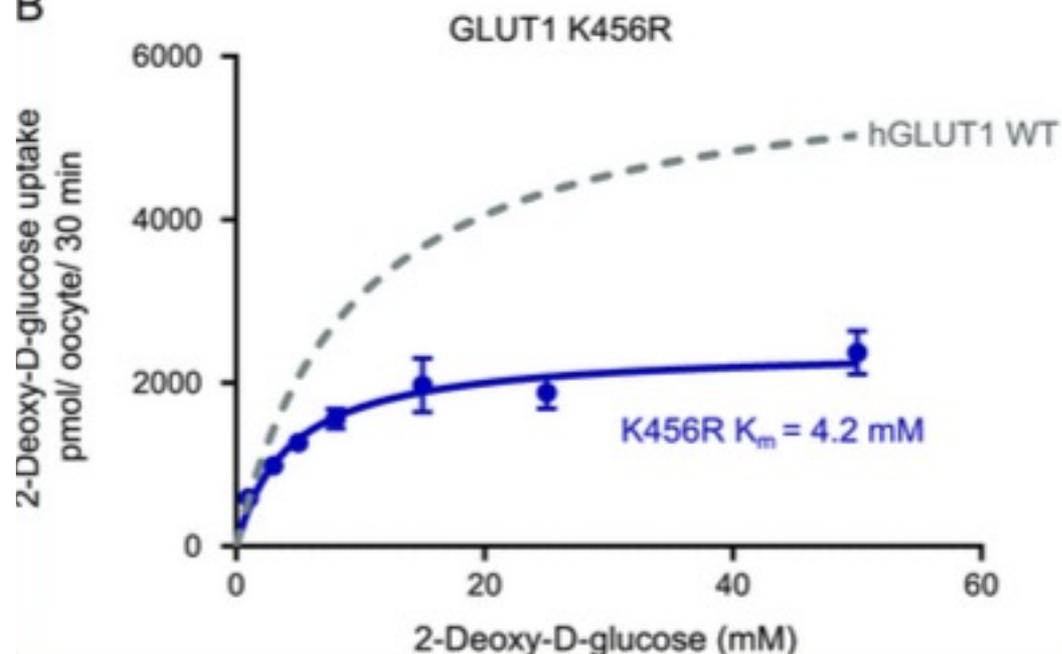
Les isoformes du transporteur de glucose

Isoforme	Tissus majoritaires	K _T mM
GluT1	Érythrocytes	1,5
GluT2	Foie, cell β pancréatiques	20
GluT3	Cerveau, nerf	0,5
GluT4	Muscle, tissu adipeux	5

A



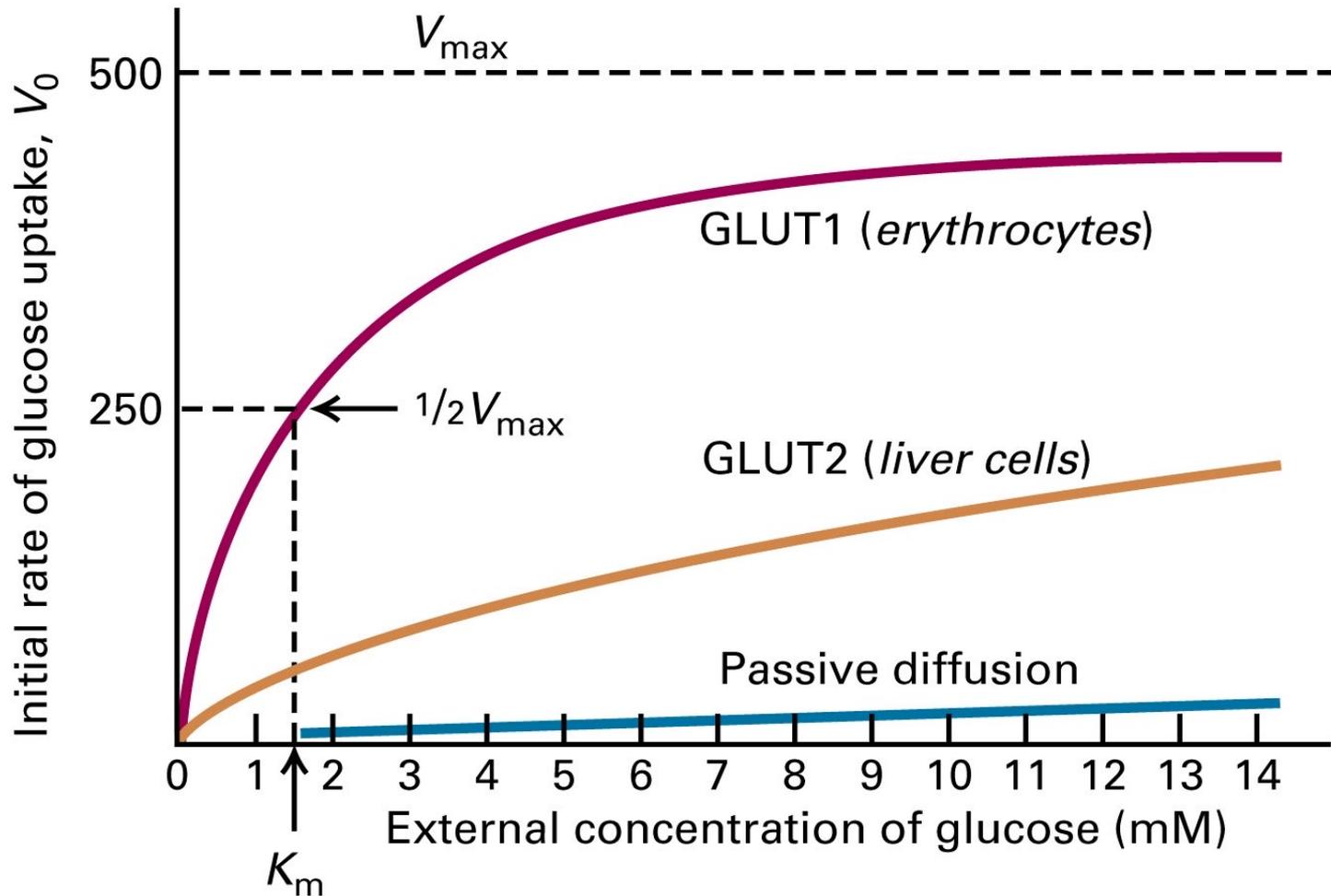
B



Les valeurs de K_T permettent de prédire comment varie la vitesse d'entrée du glucose en cas d'**hypoglycémie** ?

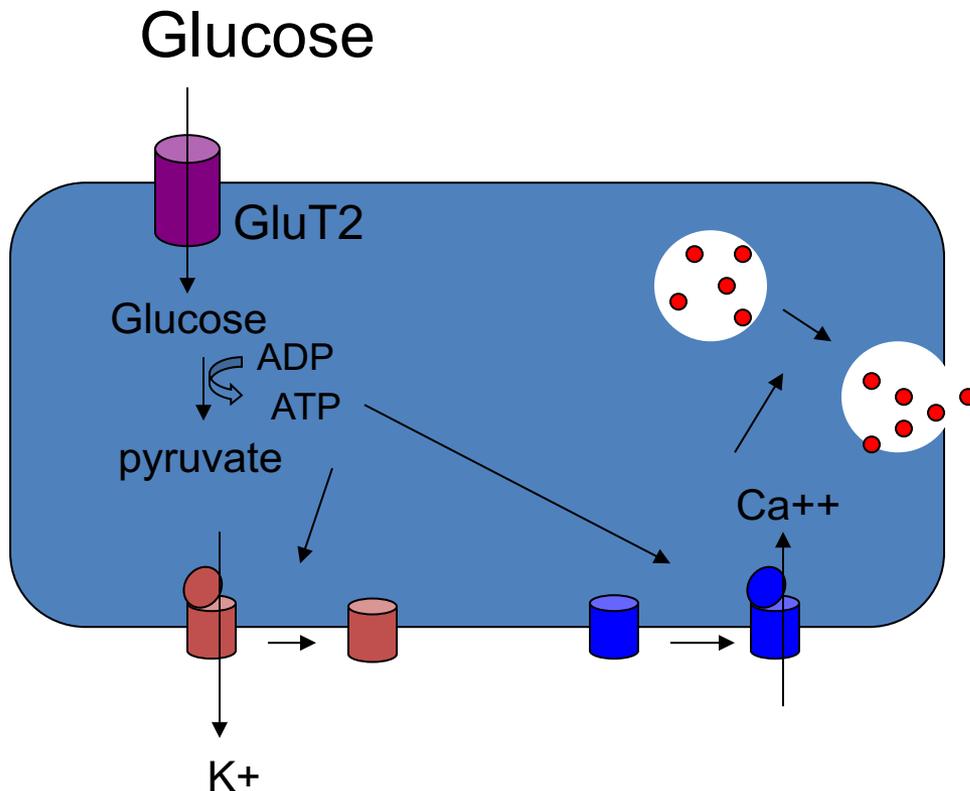
- La vitesse varie très peu dans les cellules du cerveau
- La vitesse diminue légèrement dans les érythrocytes
- La vitesse diminue significativement dans les muscles, le foie les tissus adipeux

Le K_T élevé des cellules du foie implique une augmentation de la vitesse d'entrée du glucose en cas d'**hyperglycémie**

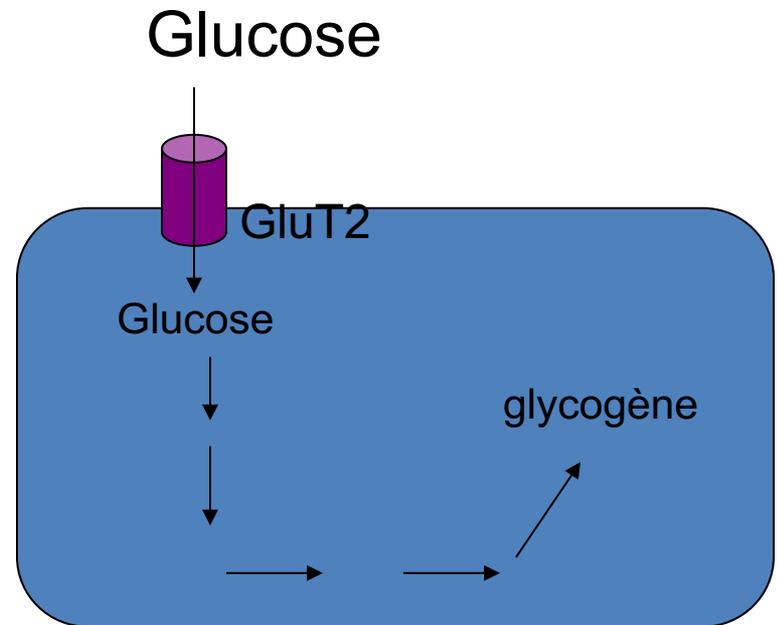


Effet de l'augmentation de la vitesse d'entrée du glucose dans le foie et dans les cellules du pancréas

cellules pancréatiques

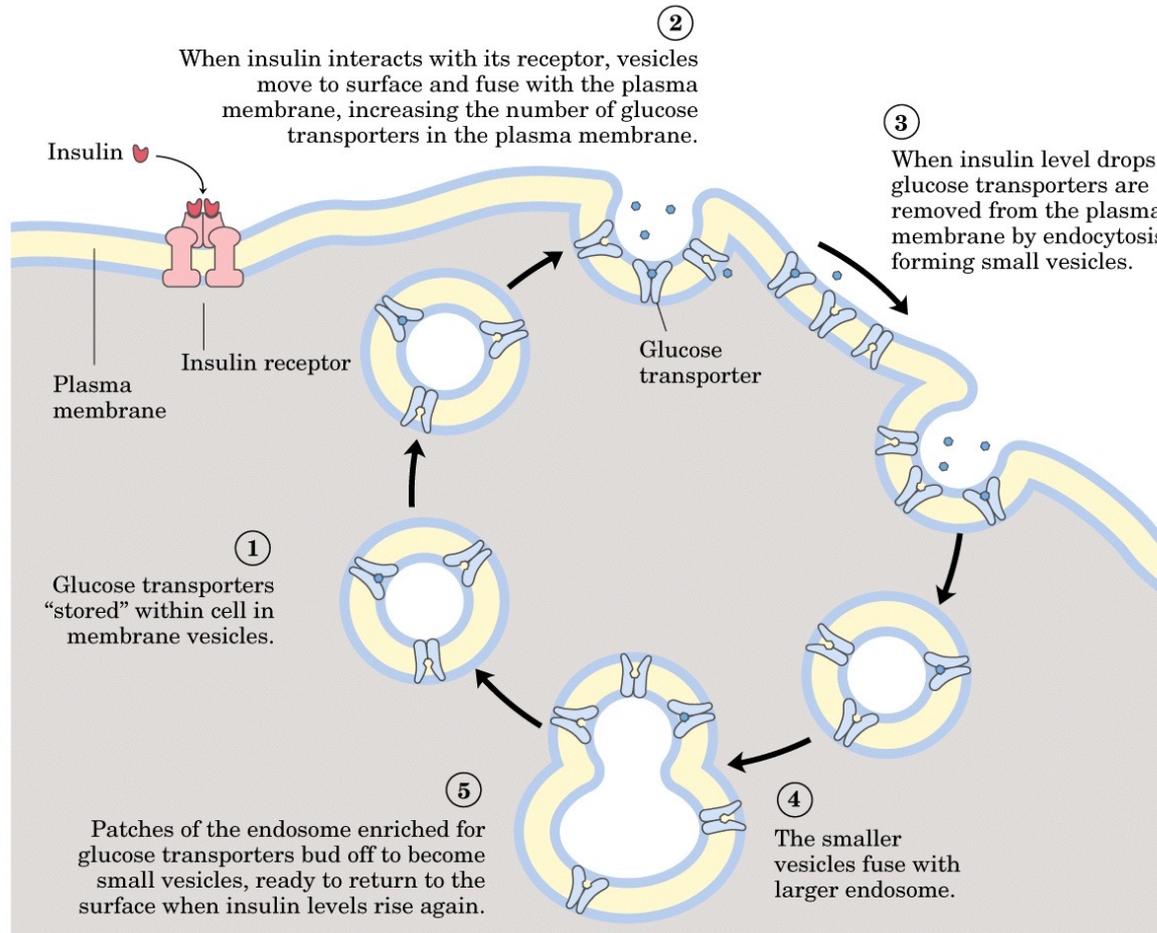


foie

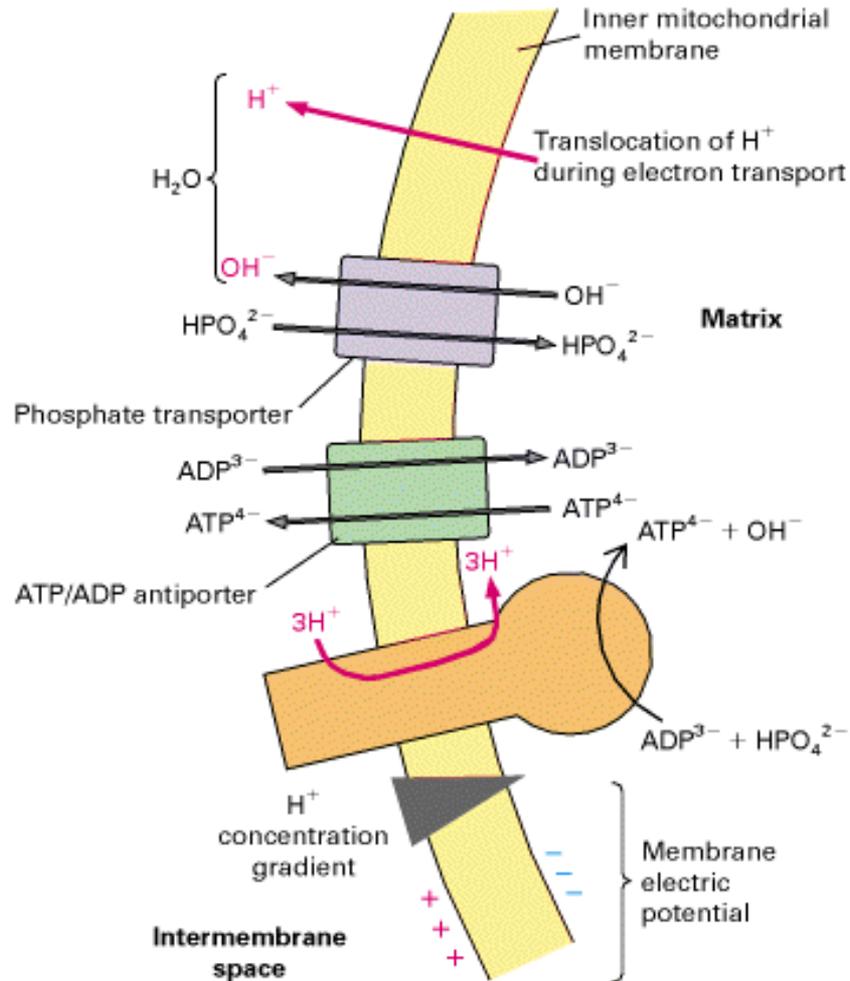


Cible de l'insuline: muscles et tissus adipeux

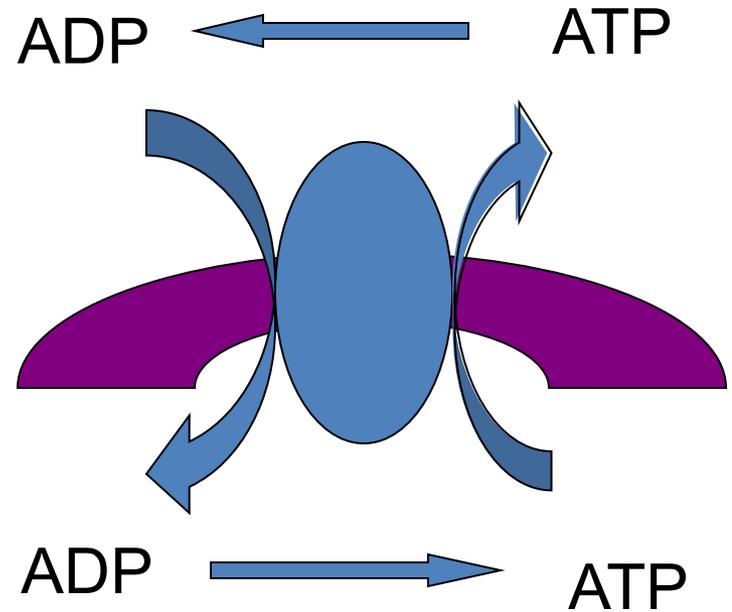
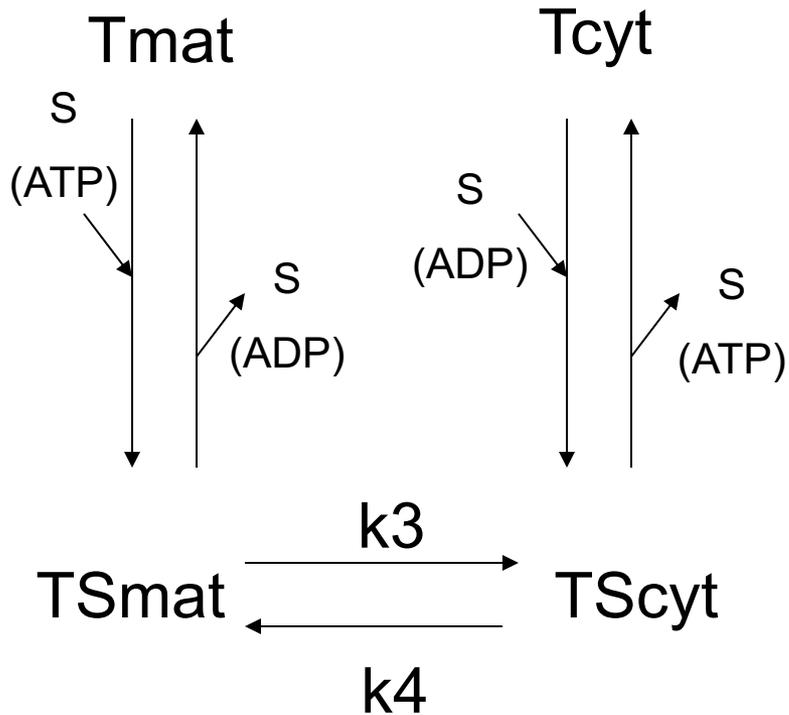
Comment faire pénétrer plus de glucose ? Externalisation de GluT4



Autre exemple de transporteur: L' ATP/ADP translocase



ATP/ADP translocase

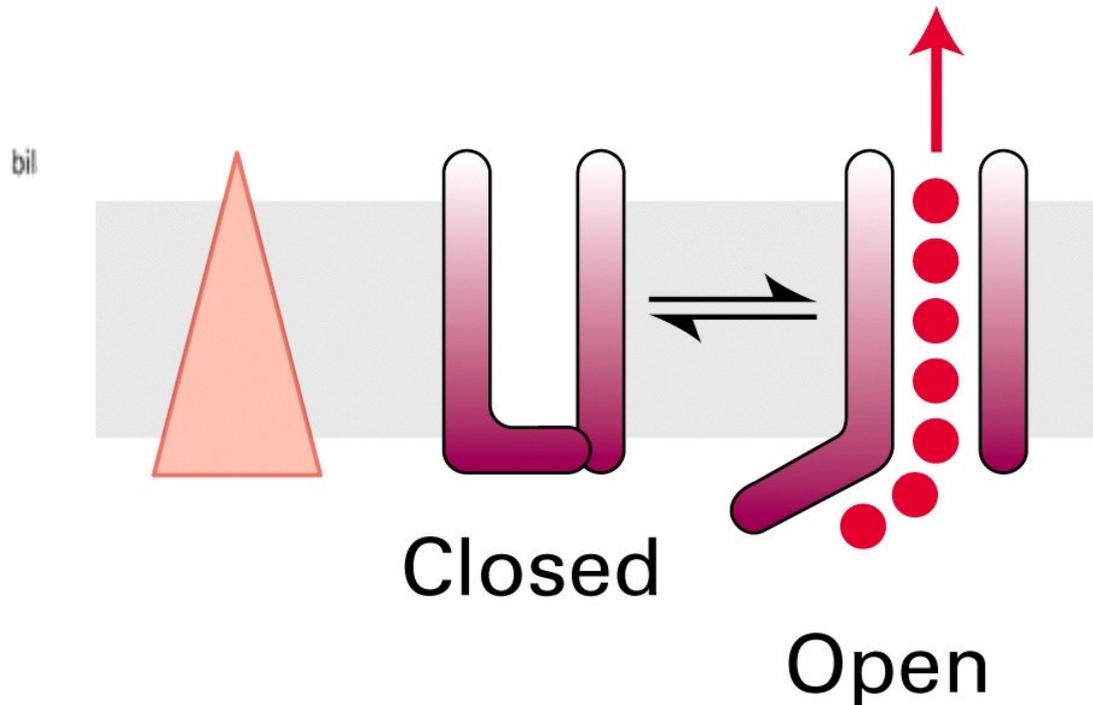


Les canaux

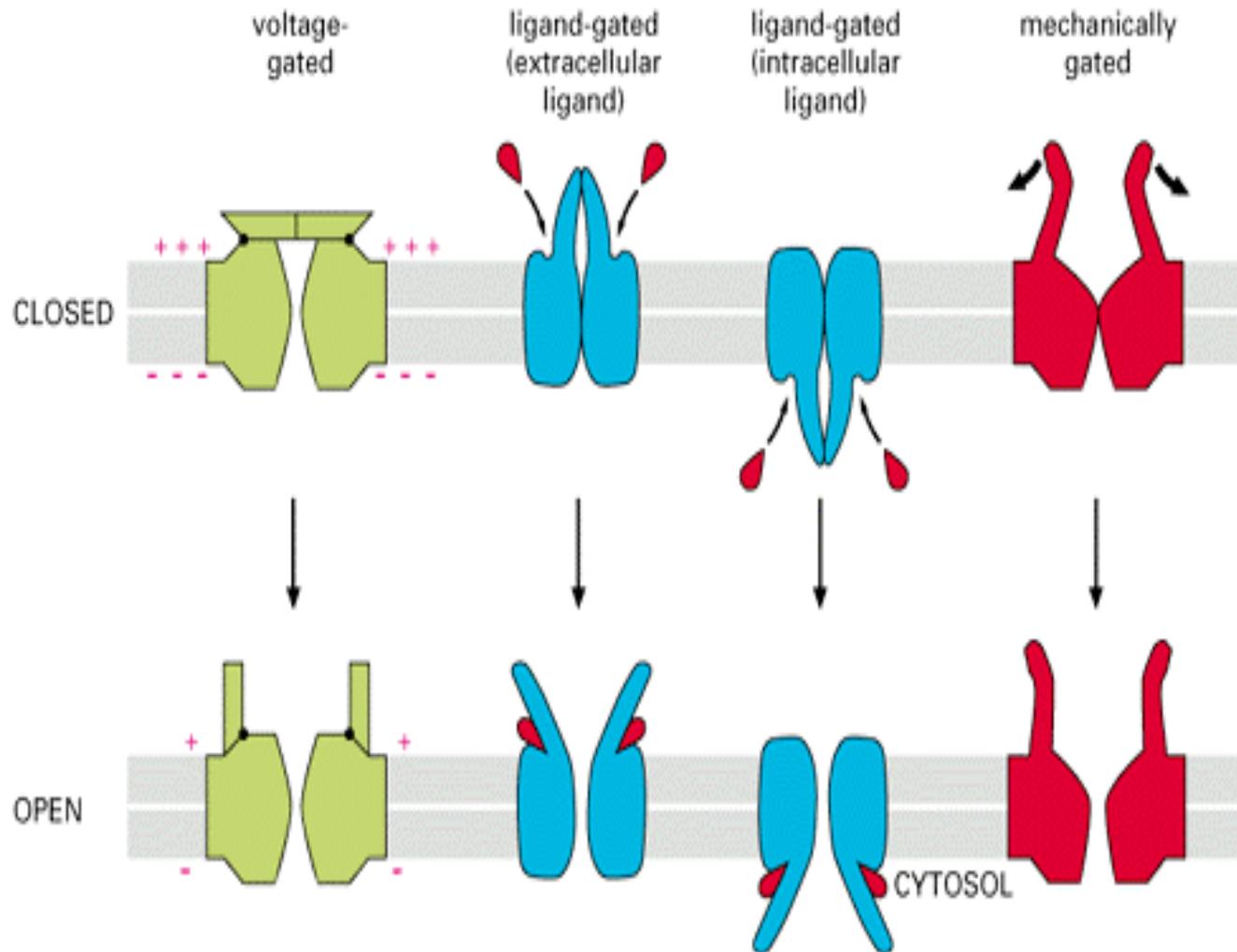
2

Ion channels

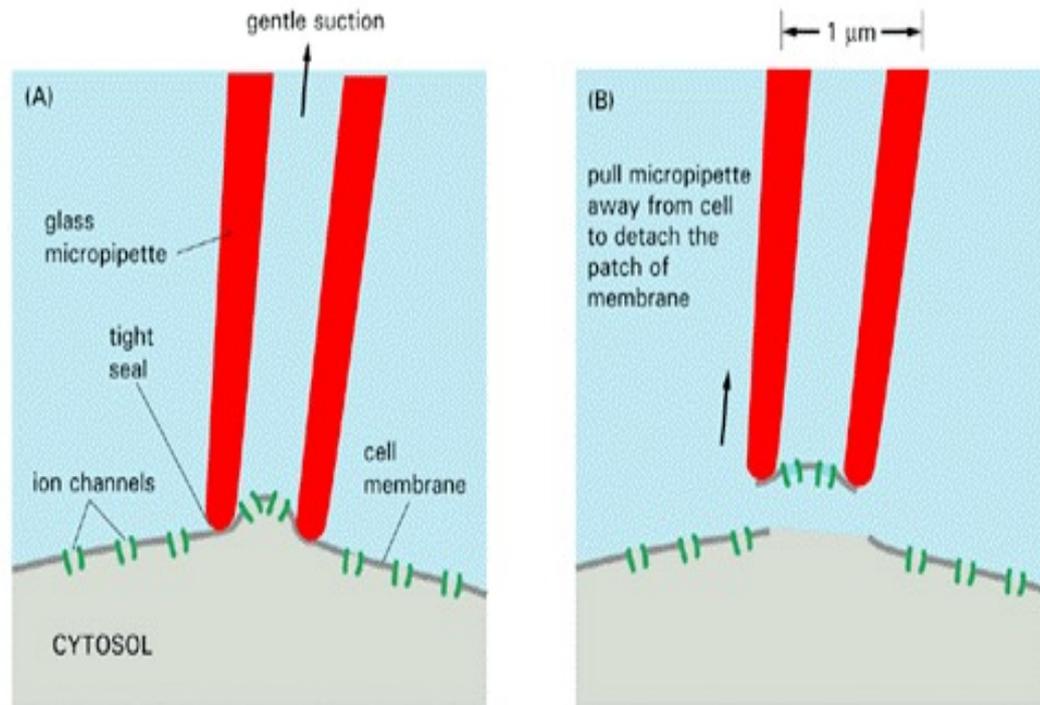
($10^7 - 10^8$ ions/s)



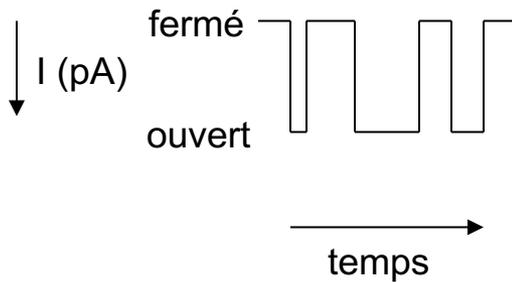
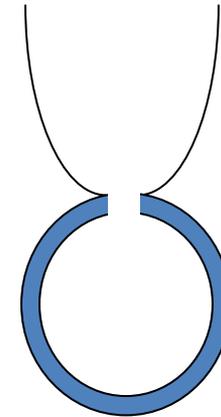
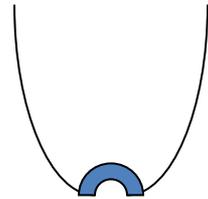
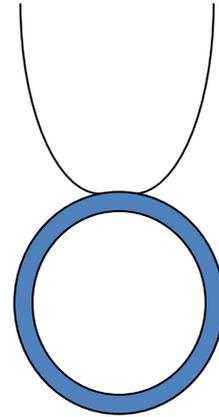
Les différentes catégories de canaux



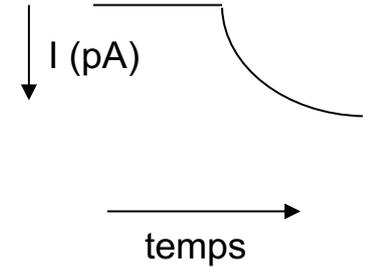
Comment étudier un canal ?



Canal isolé ou cellule entière

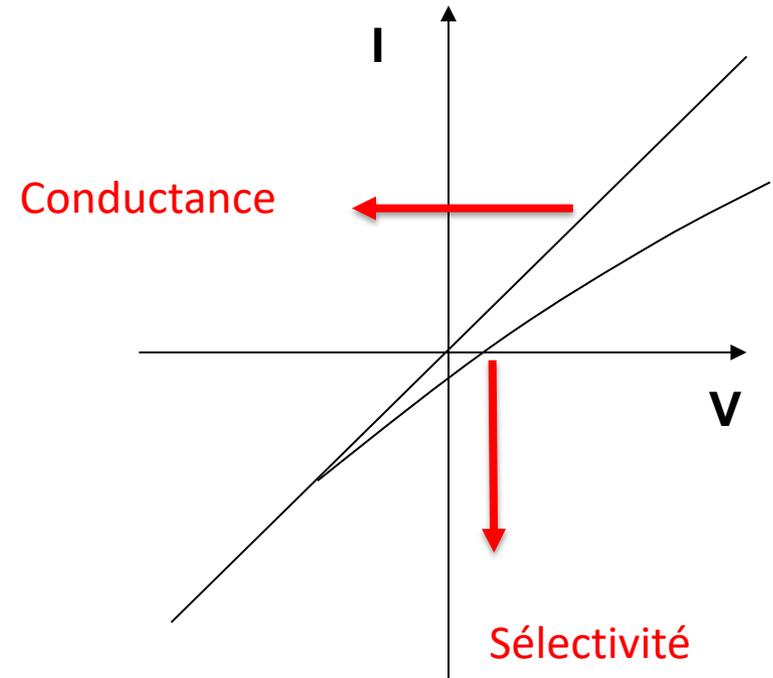
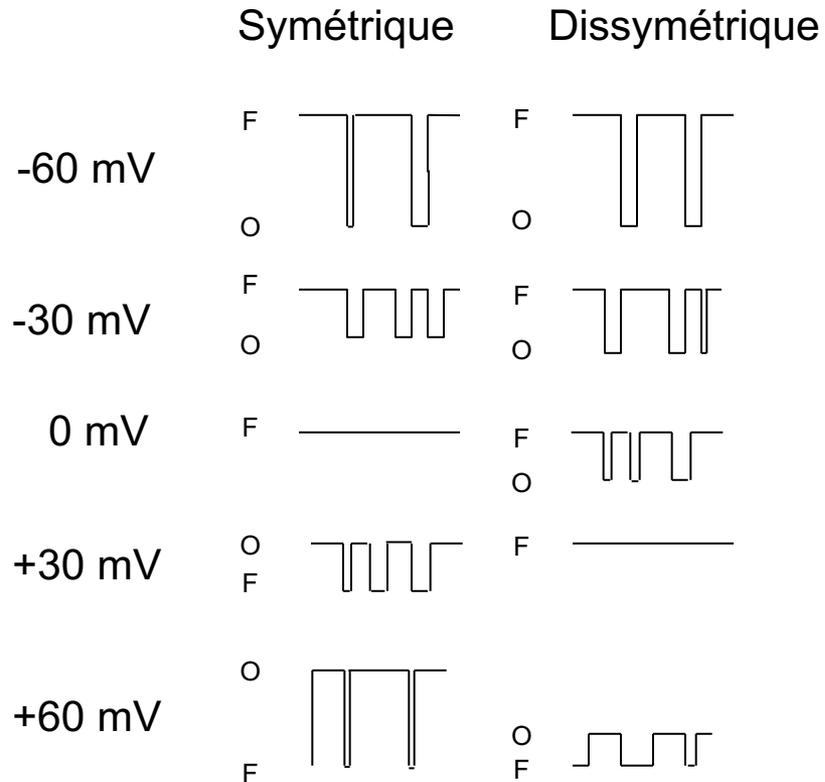


Courant unitaire

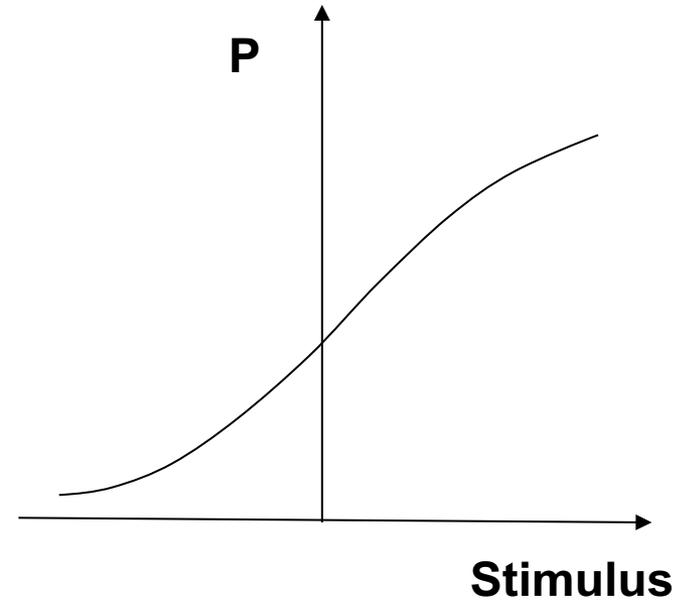
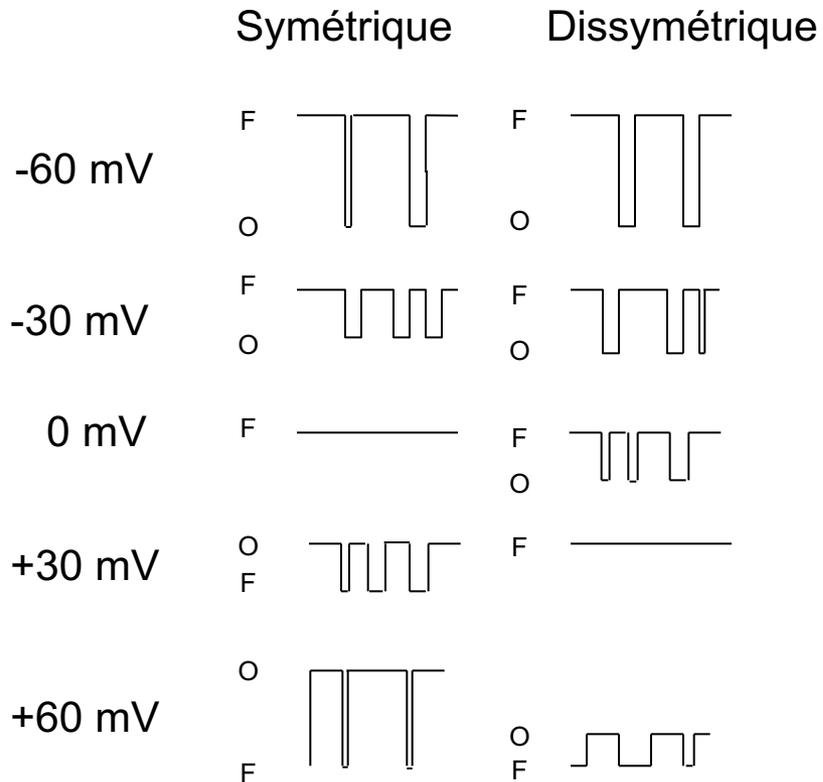


Courant global

propriétés d'un canal

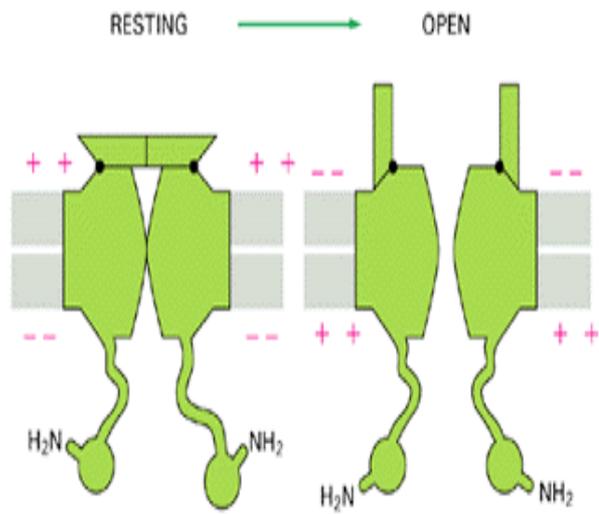
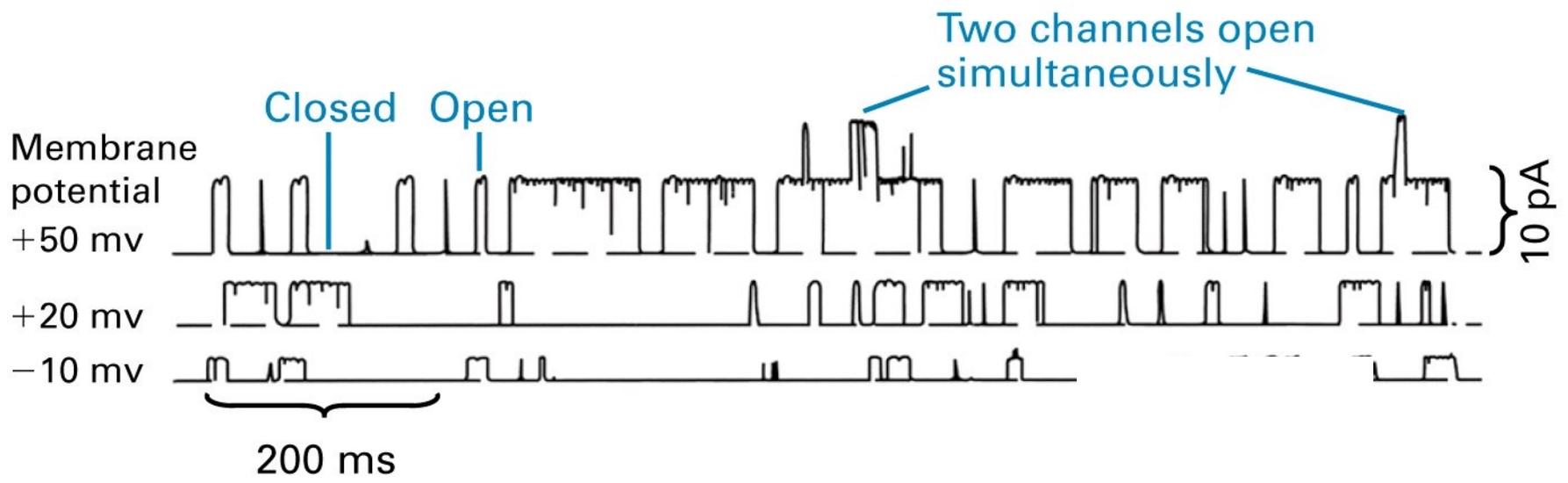


propriétés d'un canal



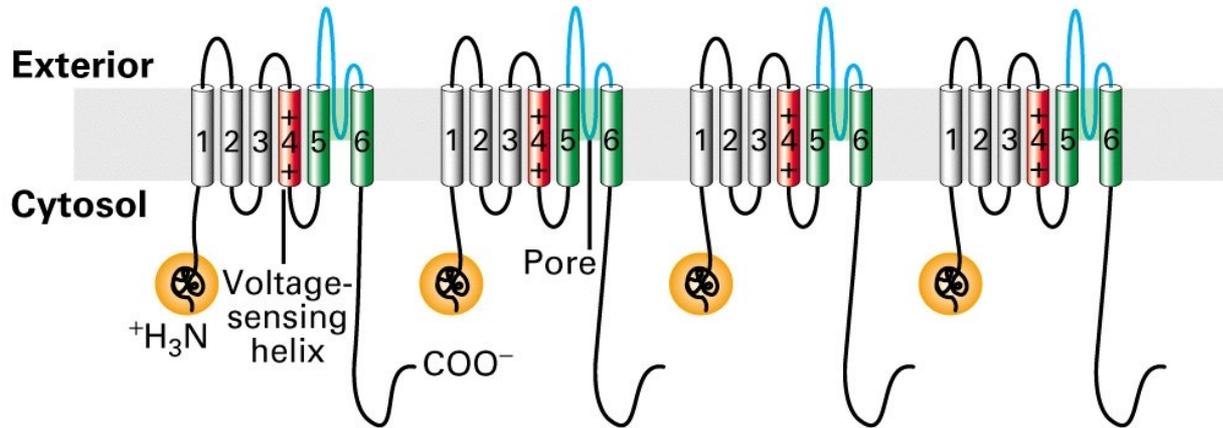
Probabilité d'ouverture

Canaux « voltage dépendants »

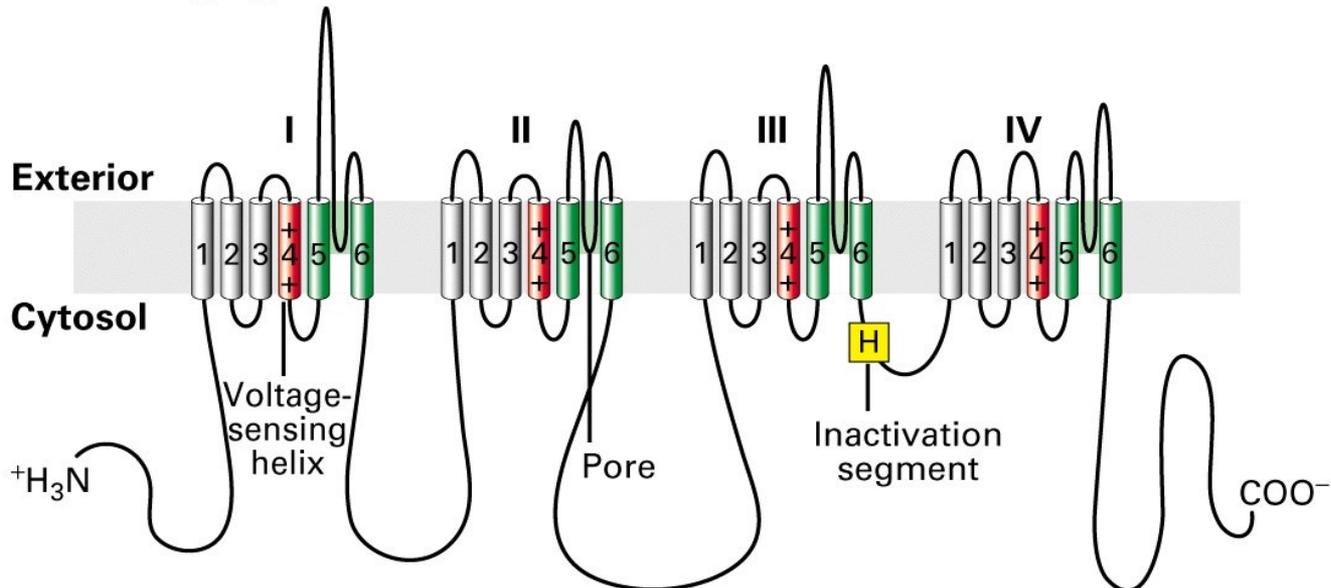


Une structure conservée

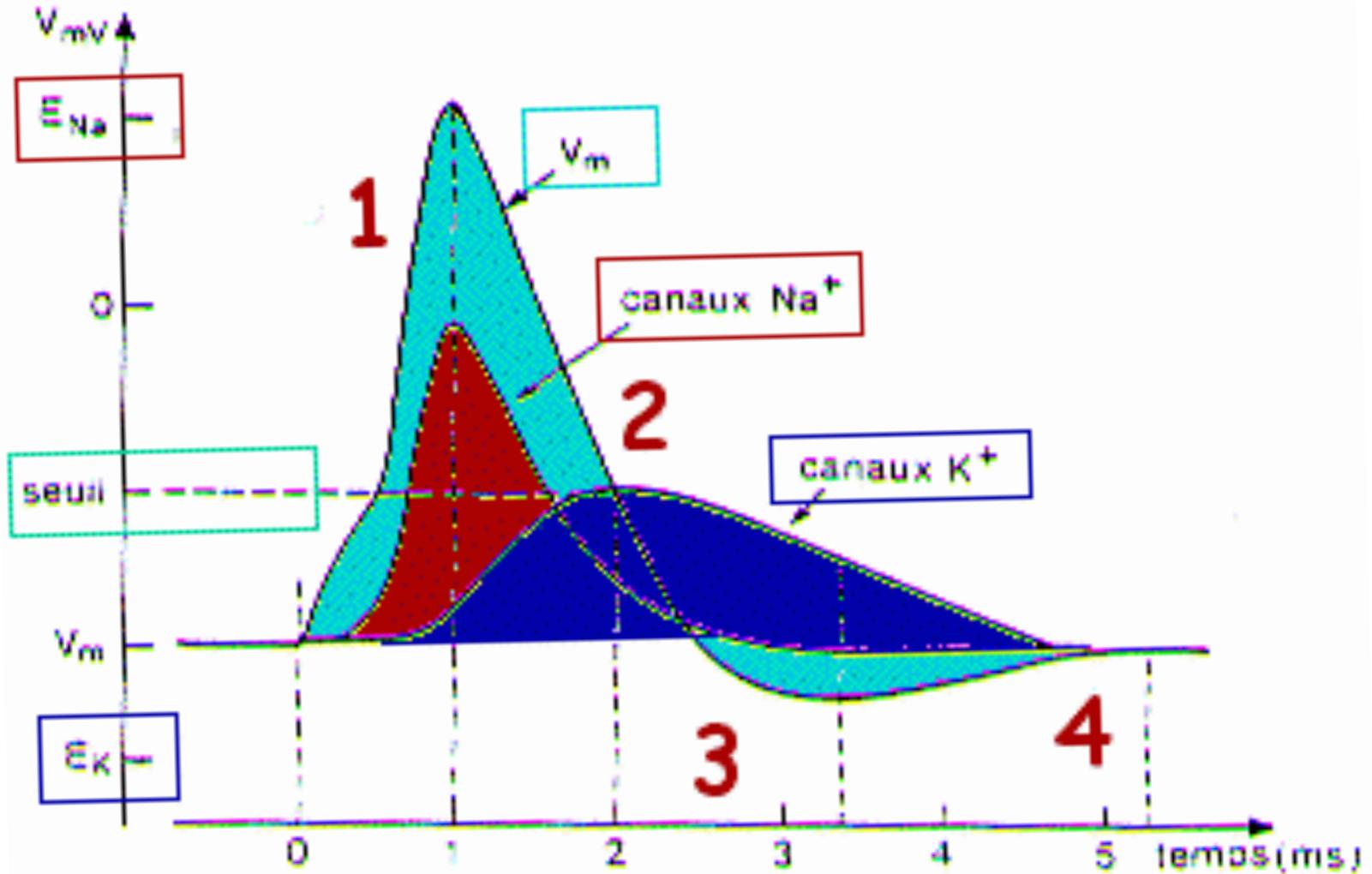
(a) Voltage-gated K⁺ channel (tetramer)



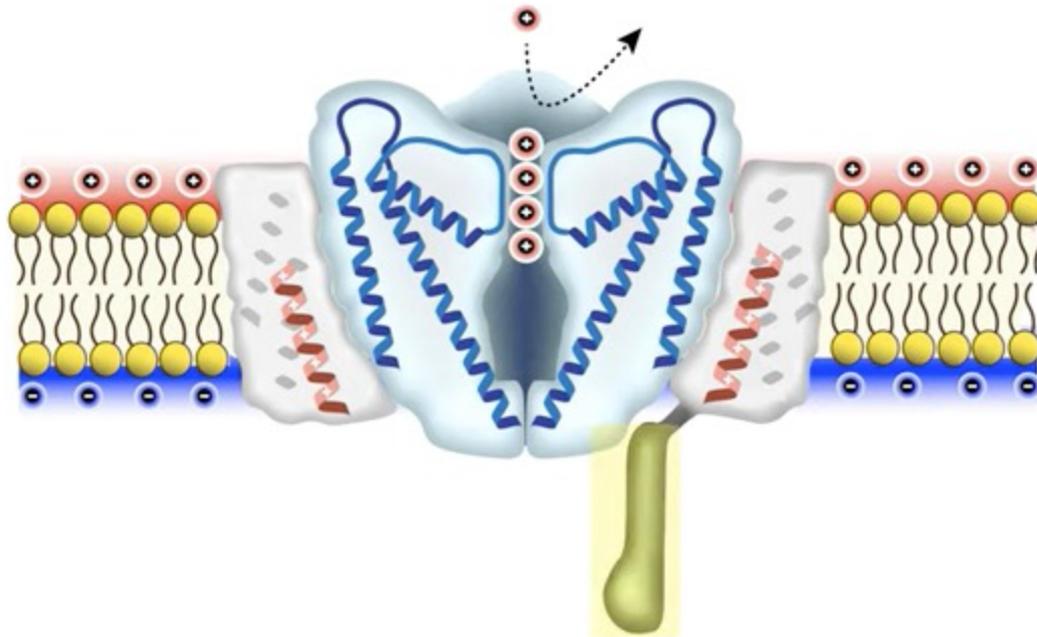
(b) Voltage-gated Na⁺ channel (monomer)



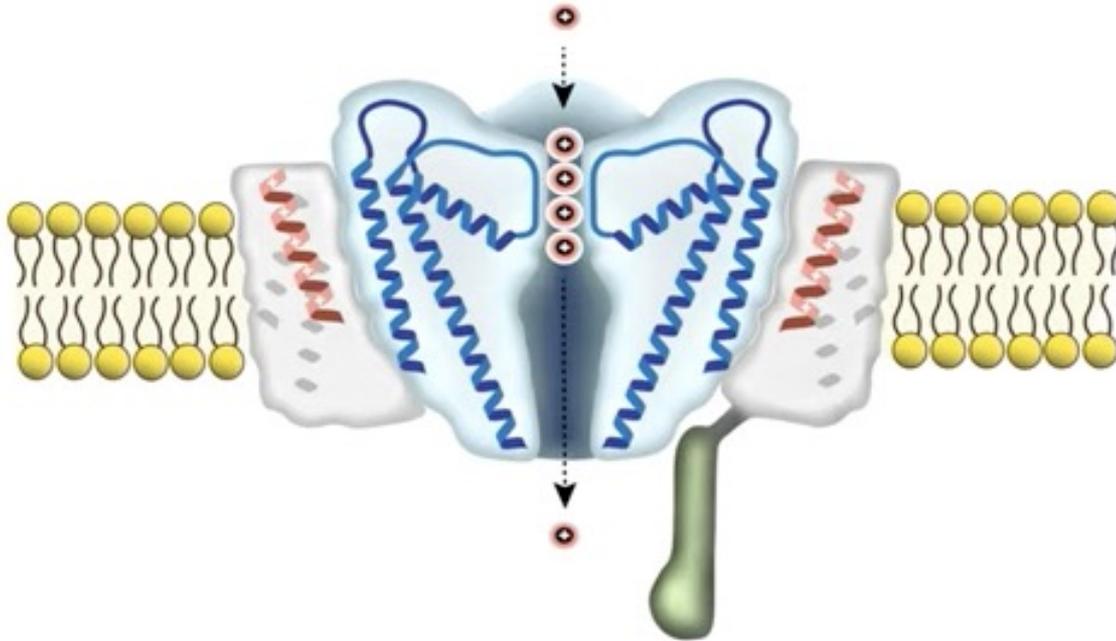
Les canaux voltage dépendants sont responsables de la propagation du potentiel d'action:
Ils permettent de véhiculer une information

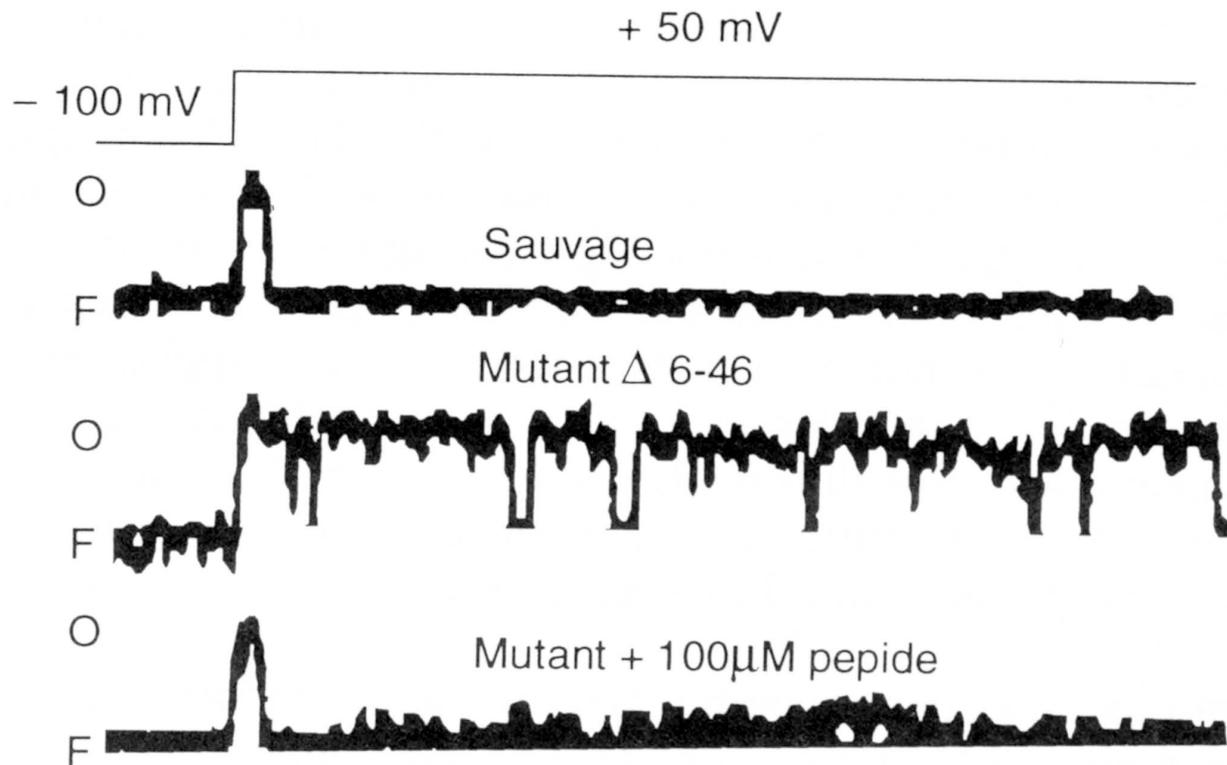
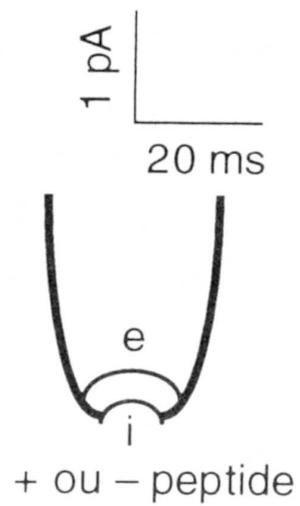


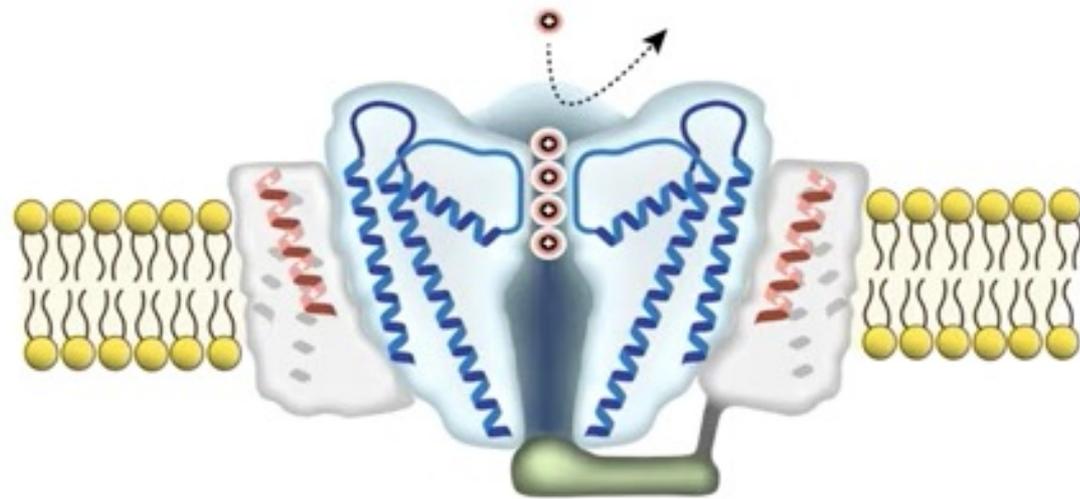
Closed



Open







Inactivated

