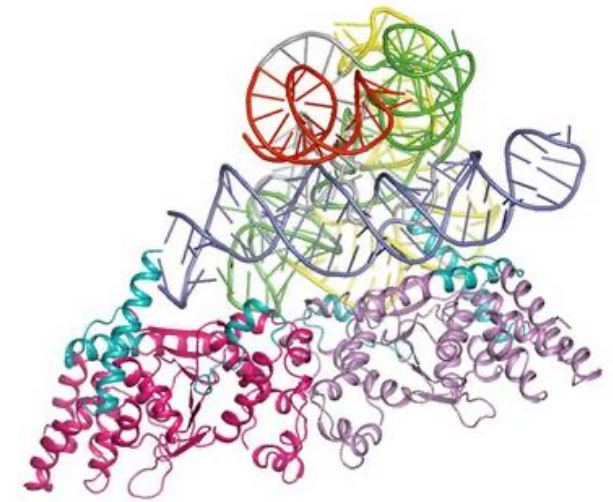


Biochimie structurale



UE du L3S5

25h de cours + 20h de TD

4,5 crédits

Equipe pédagogique :

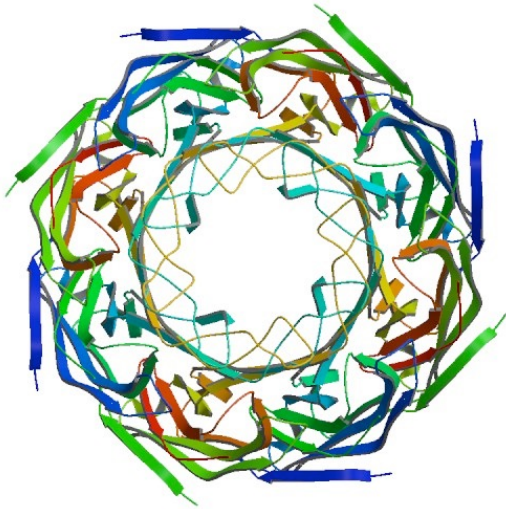
Hélène Barreteau, Nicolas Bayan, Natalia Conde-e-silva, Guillaume Lenoir, Dominique Liger, Sylvie Nessler, Thierry Touzé, Marielle Valerio-Lepiniec, Agathe Urvoas, Laure Plançon-Arnould, Diego Javier Zea.

Responsables pédagogiques:

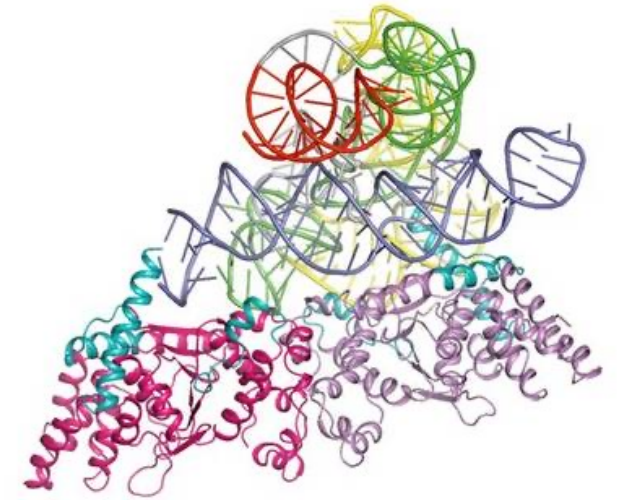
Sylvie Nessler et Nicolas Bayan.

Secrétariat pédagogique:

Patricia Delattre.



Biochimie structurale



TD introductif: Prions / chaperons (révision structure des protéines)

Analyse structure-fonction des protéines

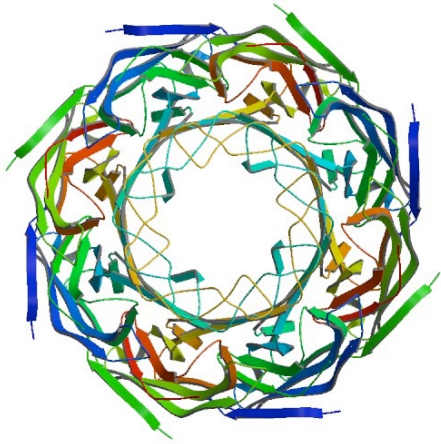
14h de cours (Sylvie Nessler) + 2h révisions

6 TDs de 2h

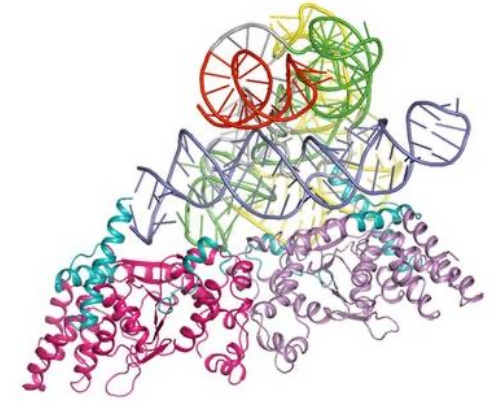
Protéines membranaires

7h de cours (Nicolas Bayan) + 2h révisions

3 TDs de 2h



Programme de « Analyse structure- fonction des protéines »



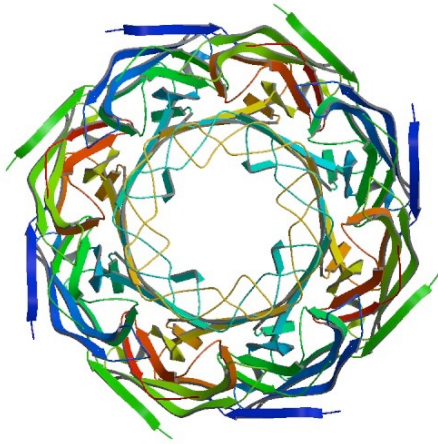
Sylvie Nessler

I- Méthodes d'analyse des enzymes (4h de cours + 4h de TD):

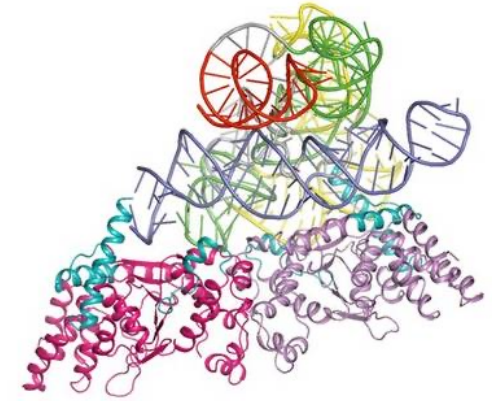
- Notion de catalyse et de site actif
- Les différentes classes d'enzymes
- Mise au point de tests d'activité
- Détermination des constantes catalytiques k_{cat} et K_M
- Notions d'inhibition et d'allostérie

TD Enzymologie 1: Utilisation de l'équation de Michaelis

TD Enzymologie 2: L'effet des différents types d'inhibiteurs



Programme de « Analyse structure- fonction des protéines »



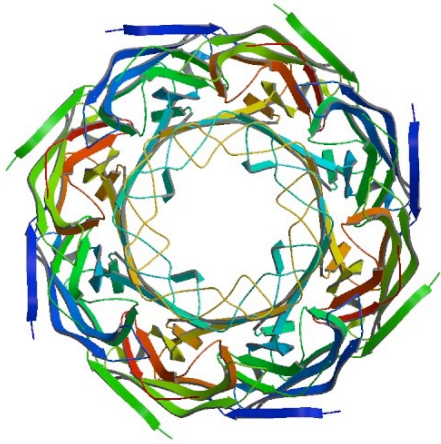
Sylvie Nessler

II - Interactions protéine/ligand, protéine/protéine (4 h de cours + 4h de TD):

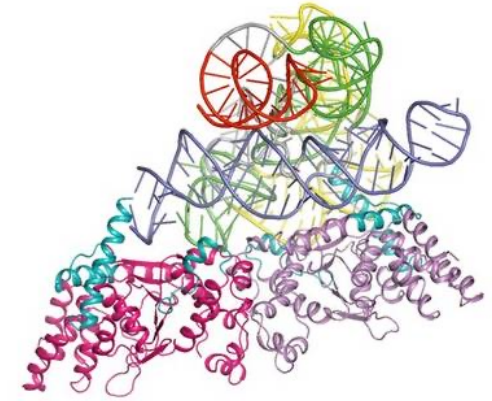
- Méthodes d'études des complexes protéiques
- Formalisme et détermination de la constante d'équilibre K_D
- Les complexes protéine/ADN: fonction, structure et analyse

TD Mesures d'interactions protéine/ligand

TD Mesures d'interactions protéine/ADN



Programme de « Analyse structure- fonction des protéines »



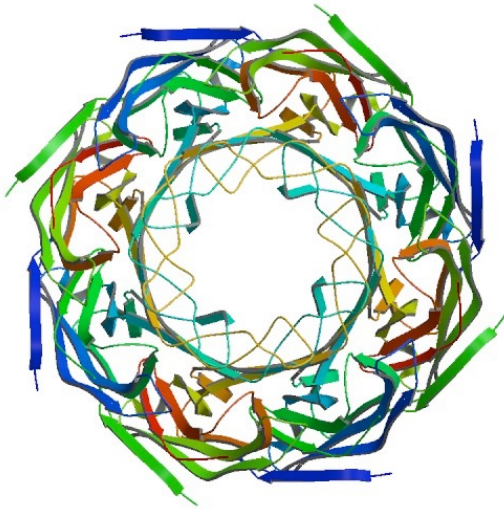
Sylvie Nessler

III - Analyse de séquences et de structures protéiques (6h de cours + 4h de TD):

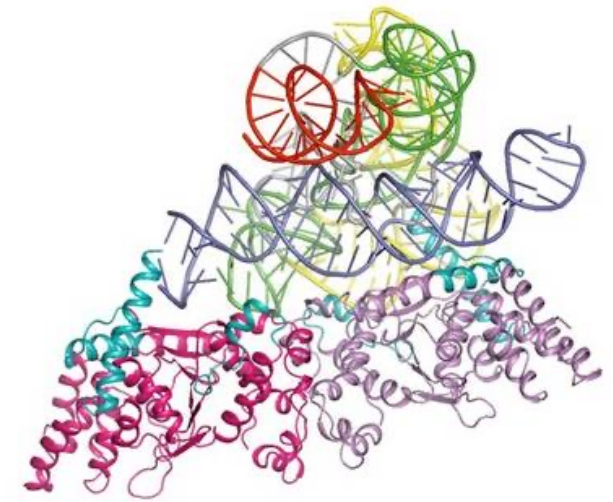
- Comparaisons de séquence et recherche de similarité
- Notion de familles de protéines
- Méthodes de détermination de structure 3D
- Analyse des structures et détermination des mécanismes moléculaires

TD Bioinformatique 1: Alignements de séquences et identifications de motifs conservés.

TD Bioinformatique 2: Analyse graphique de structure 3D



Programme de Biochimie membranaire



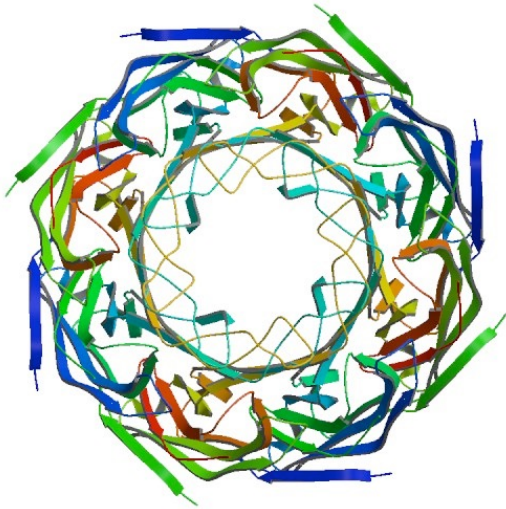
Nicolas Bayan

Introduction/Rappel: Structure et fonction des membranes

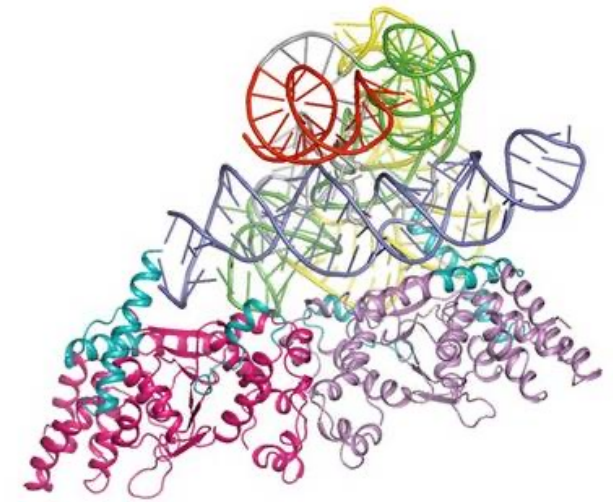
I- Lipides et Protéines membranaires:
structure et méthodes d'études

II- Dynamique membranaire:
Fluidité de la membrane, mouvements des lipides et des protéines membranaires

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



Biochimie membranaire



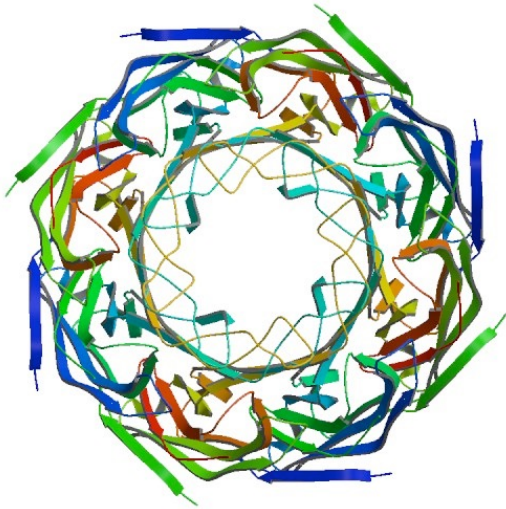
3 séances de TD de 2h

Marielle Valerio-Lepiniec, Guillaume Lenoir, Thierry Touzé, Nicolas Bayan.

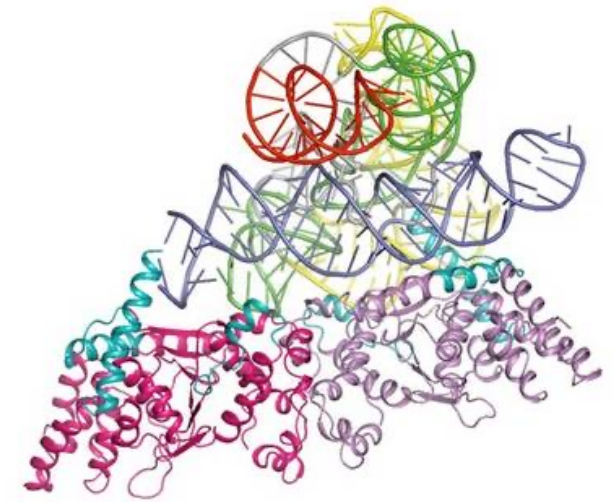
1- Membrane 1: détergents, reconstitution des protéines, et profil d'hydrophobicité

2- Membrane 2: Topologie et structure de AChR

3- Membrane 3: Etude fonctionnelle du transporteur de glucose GluT



Biochimie membranaire



Planning des cours: 3 cours en Amphi (total 7h de cours)

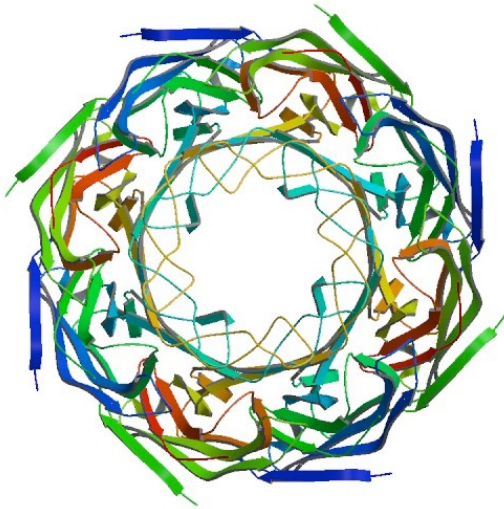
➔ **Le jeudi 31/08/2023: 13h-16h, Amphi H5, Bat 333**

Le mercredi 06/09/2022: 13h30-15h30, Amphi G2, Bat 450

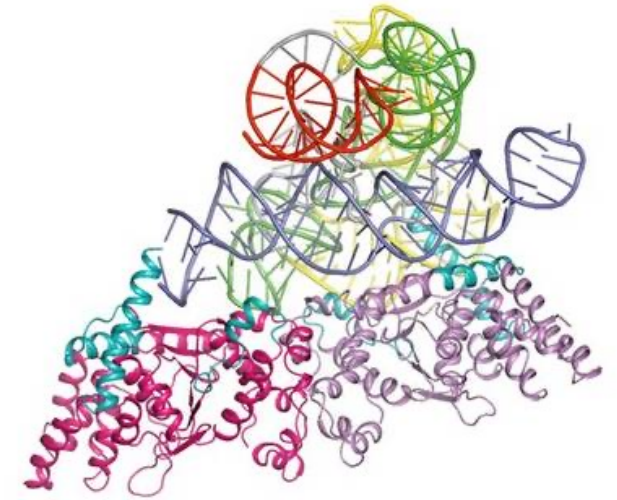
Le jeudi 07/09/2022: 10h30-12h30, Amphi G1, Bat 450

+ 1 séance de correction d'annales / questions sur cours et TD

Le mercredi 11/10/2022: 13h30-15h30, Amphi G2, Bat 450

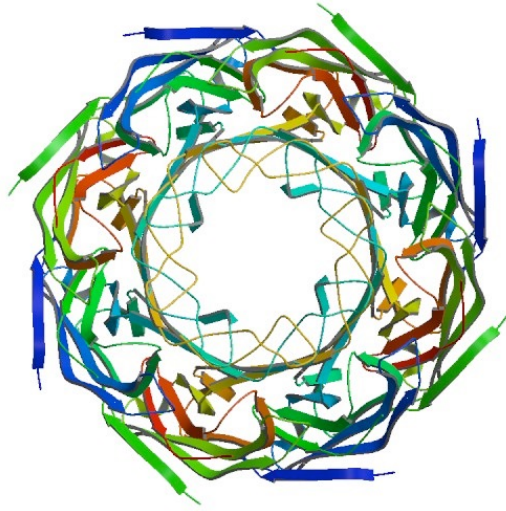


Contrôle des connaissances

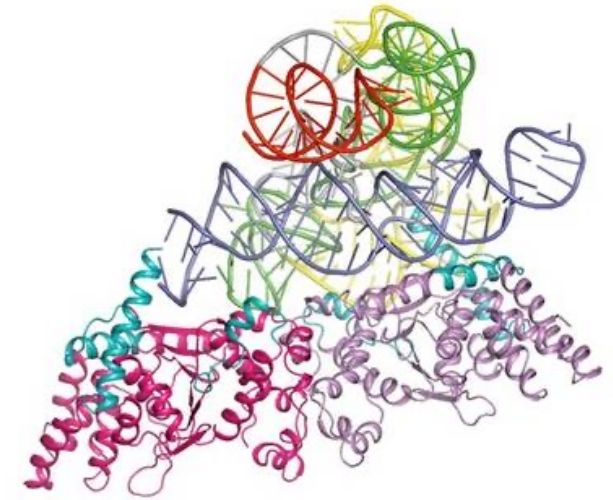


1 partiel (P) : Le 15 novembre à 13h30
(durée 1h30 environ)

Programme: « biochimie des membranes »
(Cours et TD)



Contrôle des connaissances



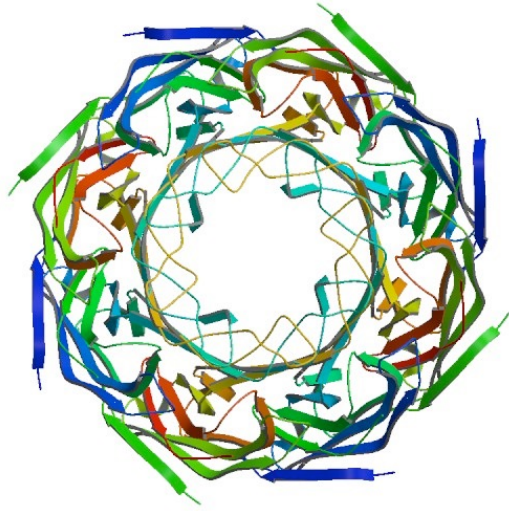
1 Examen Final (EF) prévu en décembre (durée 2h)

Programme de l'examen final:

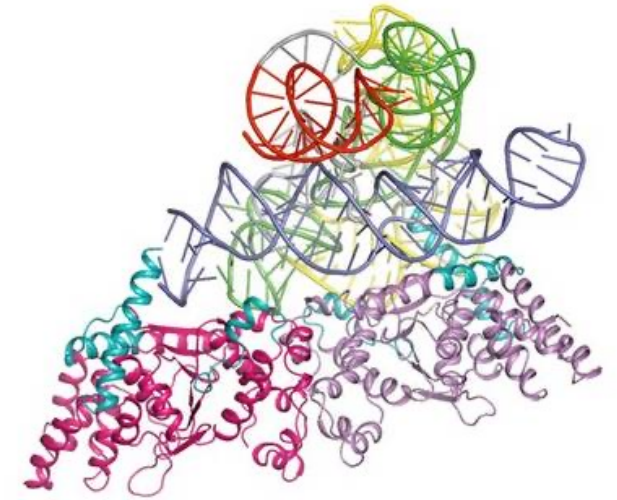
uniquement

« analyse structures-fonctions des protéines »

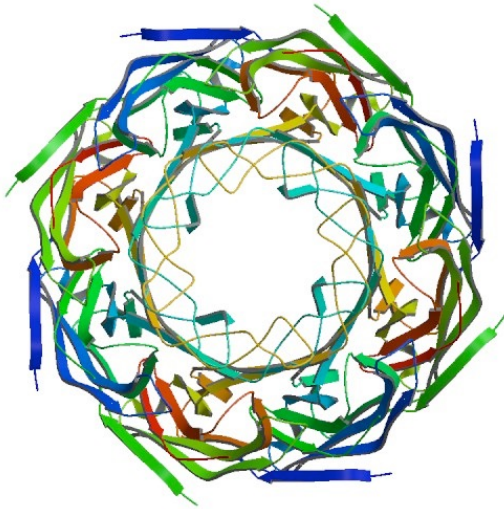
(cours et TD)



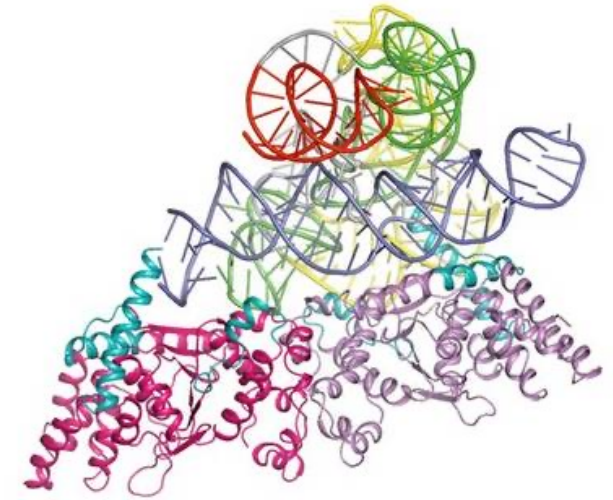
Contrôle des connaissances



Note finale UE 1^{ère} session = 0,35xP + 0,65xEF



Contrôle des connaissances



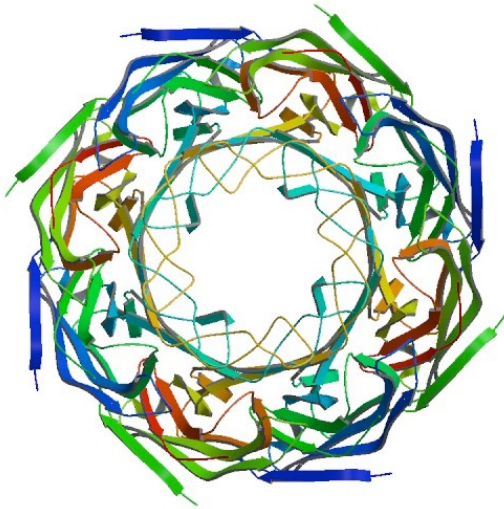
En cas de besoin

1 Examen de seconde chance (ER) de 2h

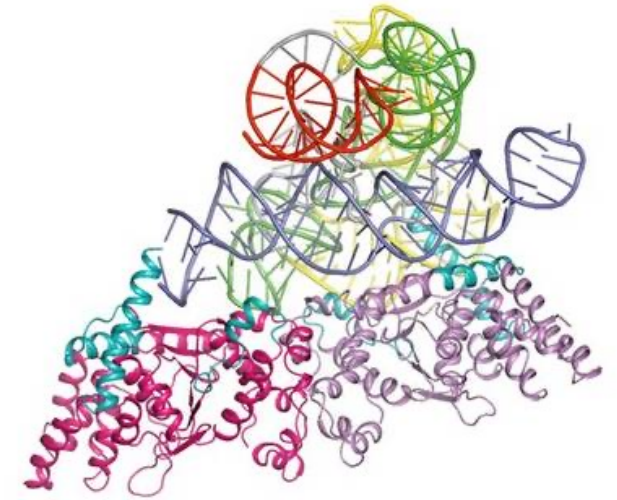
(fin Mai ou début Juin)

Programme : tout !!!!

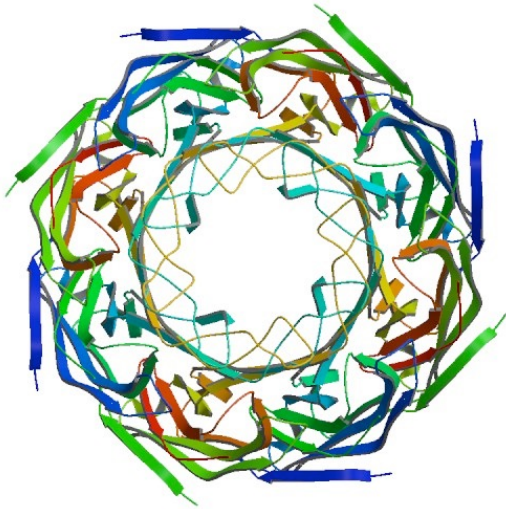
**Biochimie membranaire +
Analyse Structures - Fonctions des protéines.
Cours et TDs.**



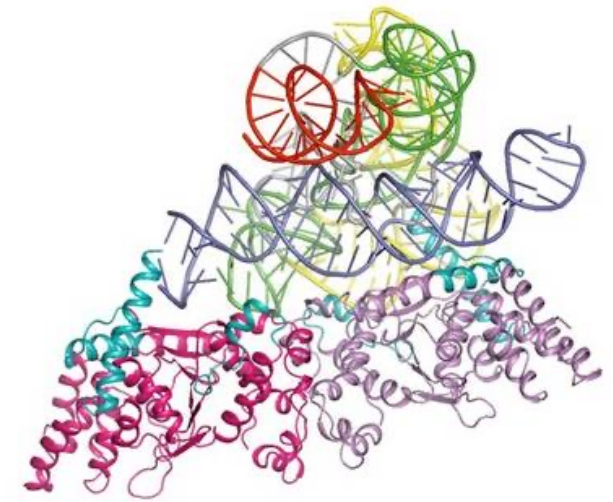
Contrôle des connaissances



Note finale UE 2^{ème} session = 1x ER



eCampus



Intitulé: Biochimie Structurale

Ce cours eCampus contiendra en particulier:

document « pré-requis L3 Biochimie structurale »

+ ppt du cours

+ poly TDs

+ annales 2021-2022 et 2022-2023

Biochimie Membranaire



Introduction - Rôles et importance des membranes biologiques

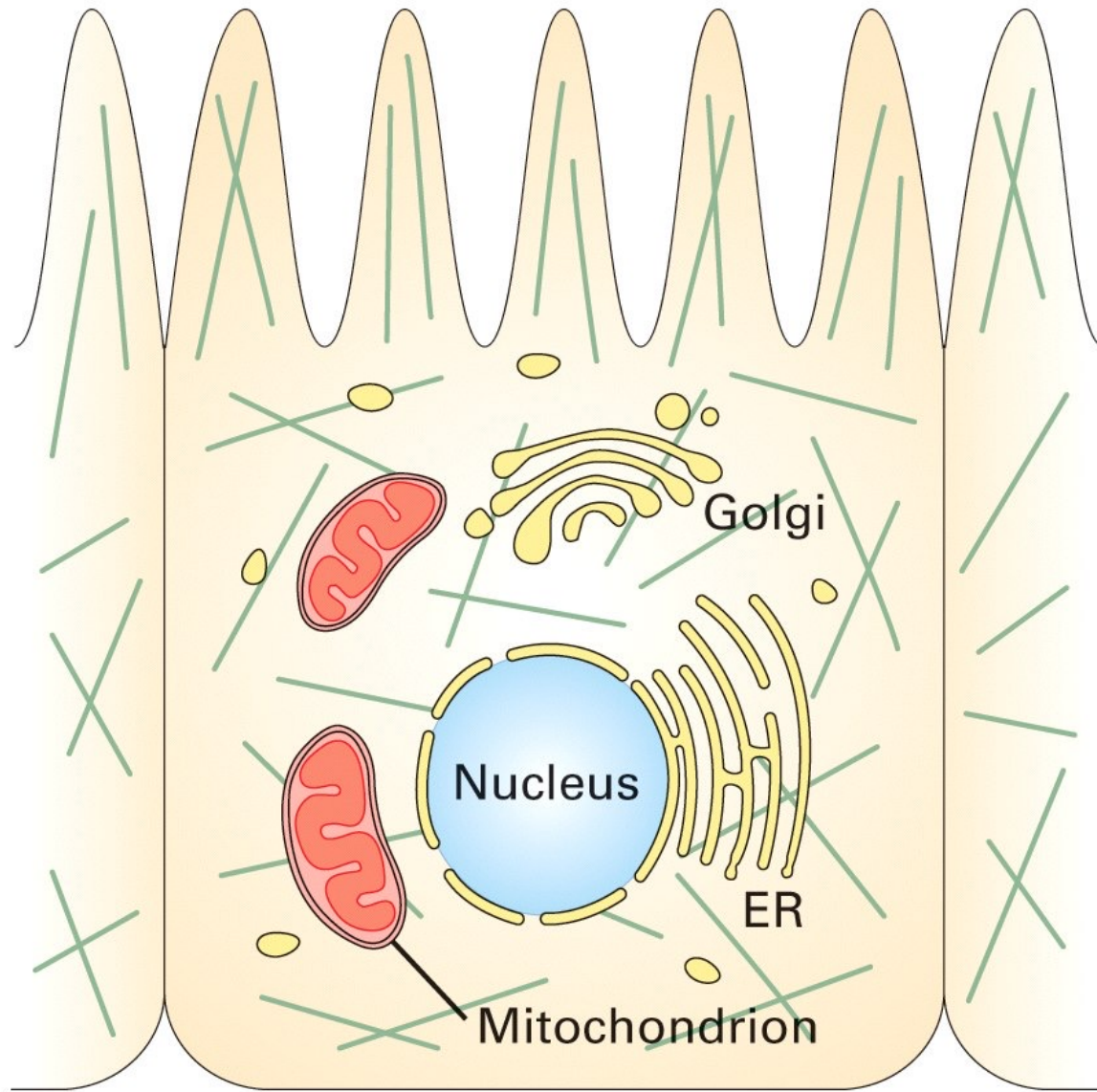
1- Lipides et protéines membranaires / dynamique membranaire

2- Etude expérimentale des protéines membranaires

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

Rôles et importance des membranes biologiques

- Rôle de compartimentation
(échanges et barrière)
- Rôle dans la conversion d'énergie

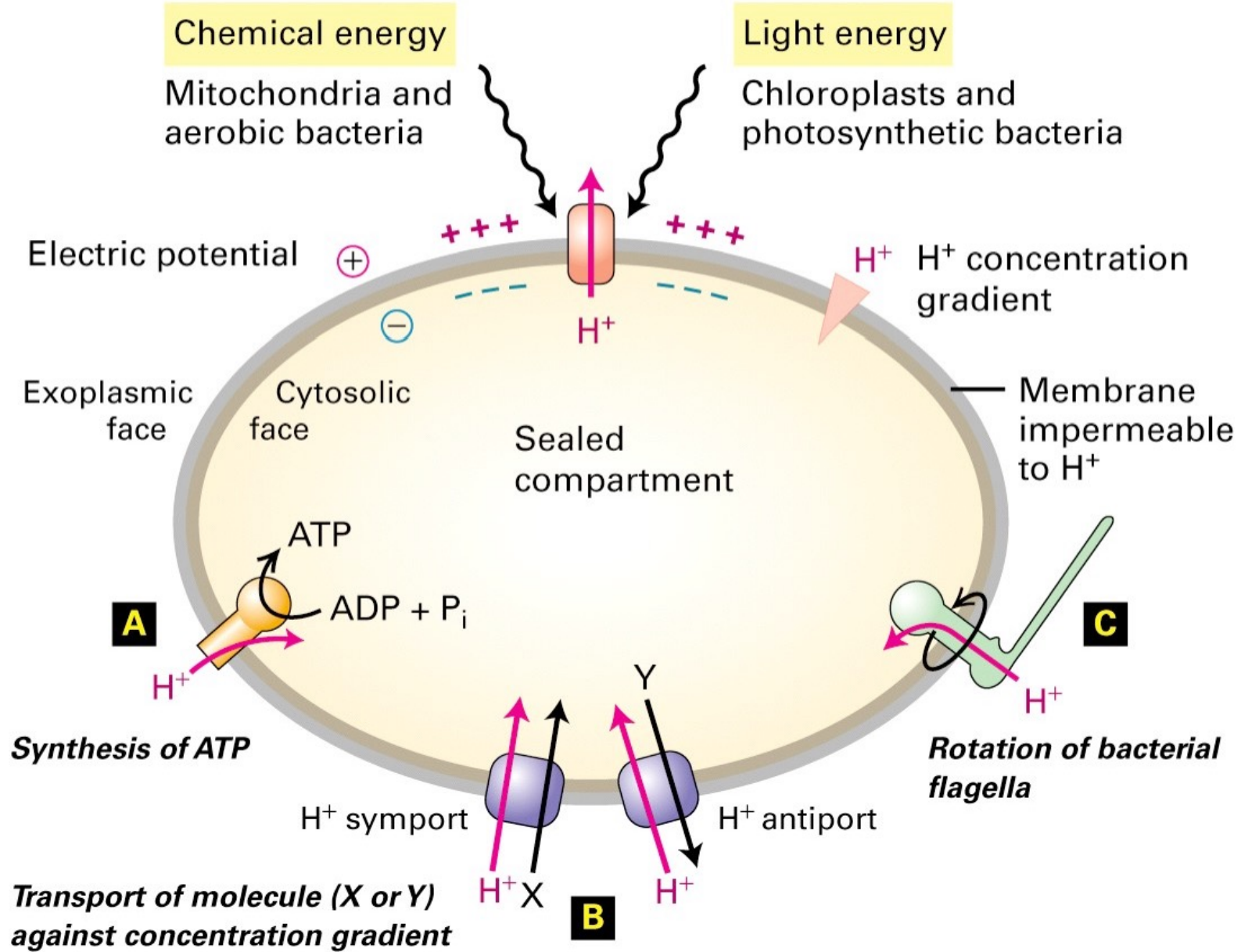


■ Plasma membrane
(700 μm^2)

■ Internal
membranes
(7000 μm^2)

■ Cytoskeleton
(94,000 μm^2)

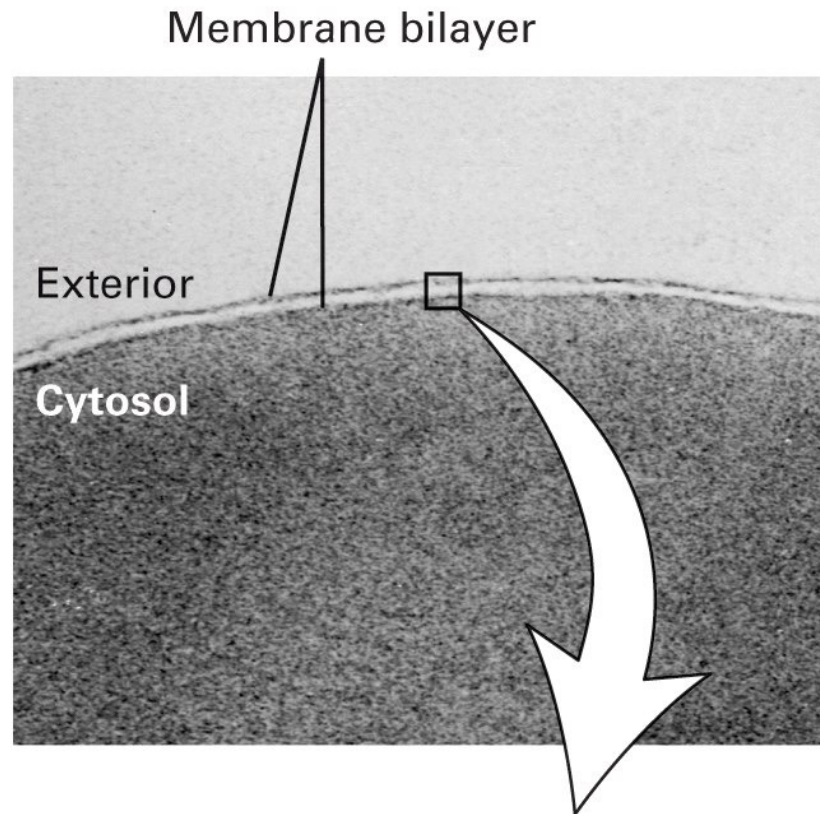
GENERATION OF PROTON-MOTIVE FORCE



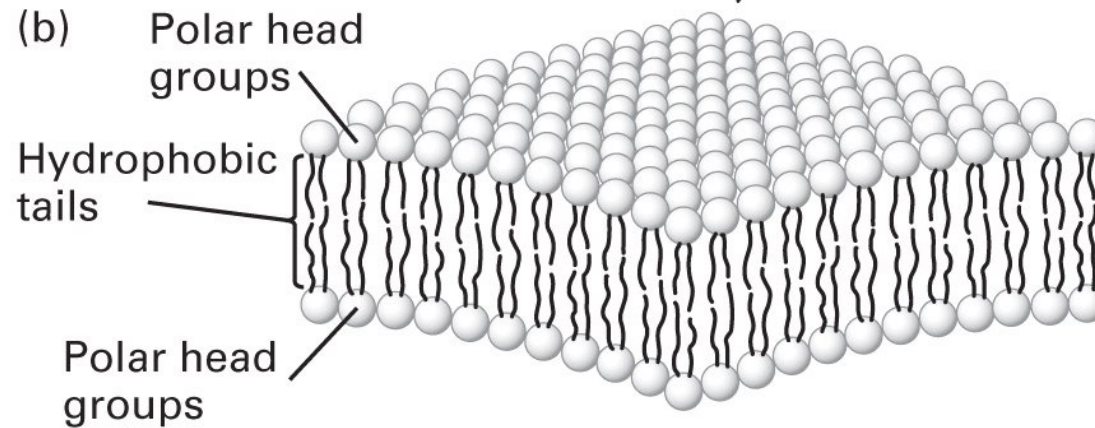
CHEMIOSMOTIC COUPLING

La membrane vue par microscopie électronique après coloration négative

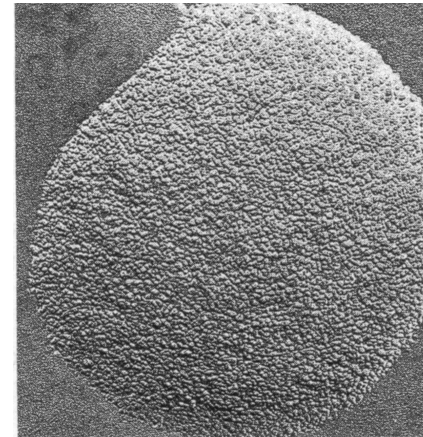
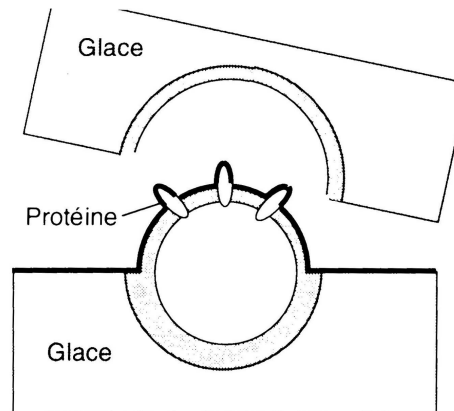
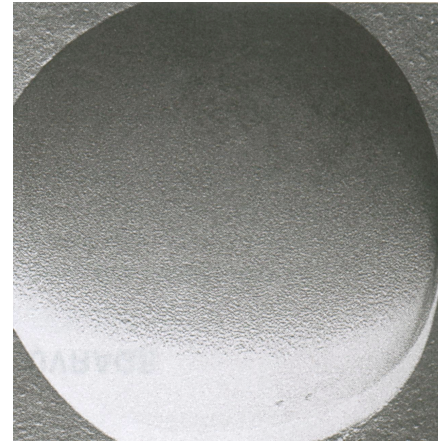
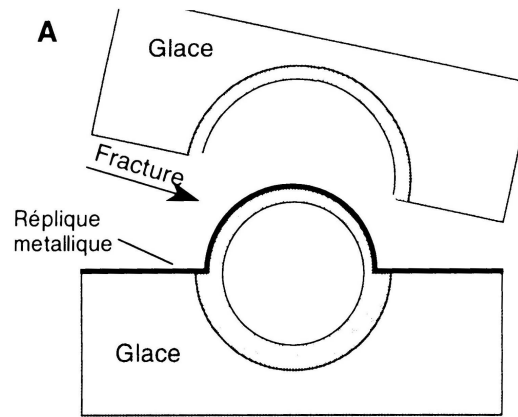
(a)



(b)



La membrane vue par microscopie électronique après cryofracture



Caractéristiques des membranes biologiques

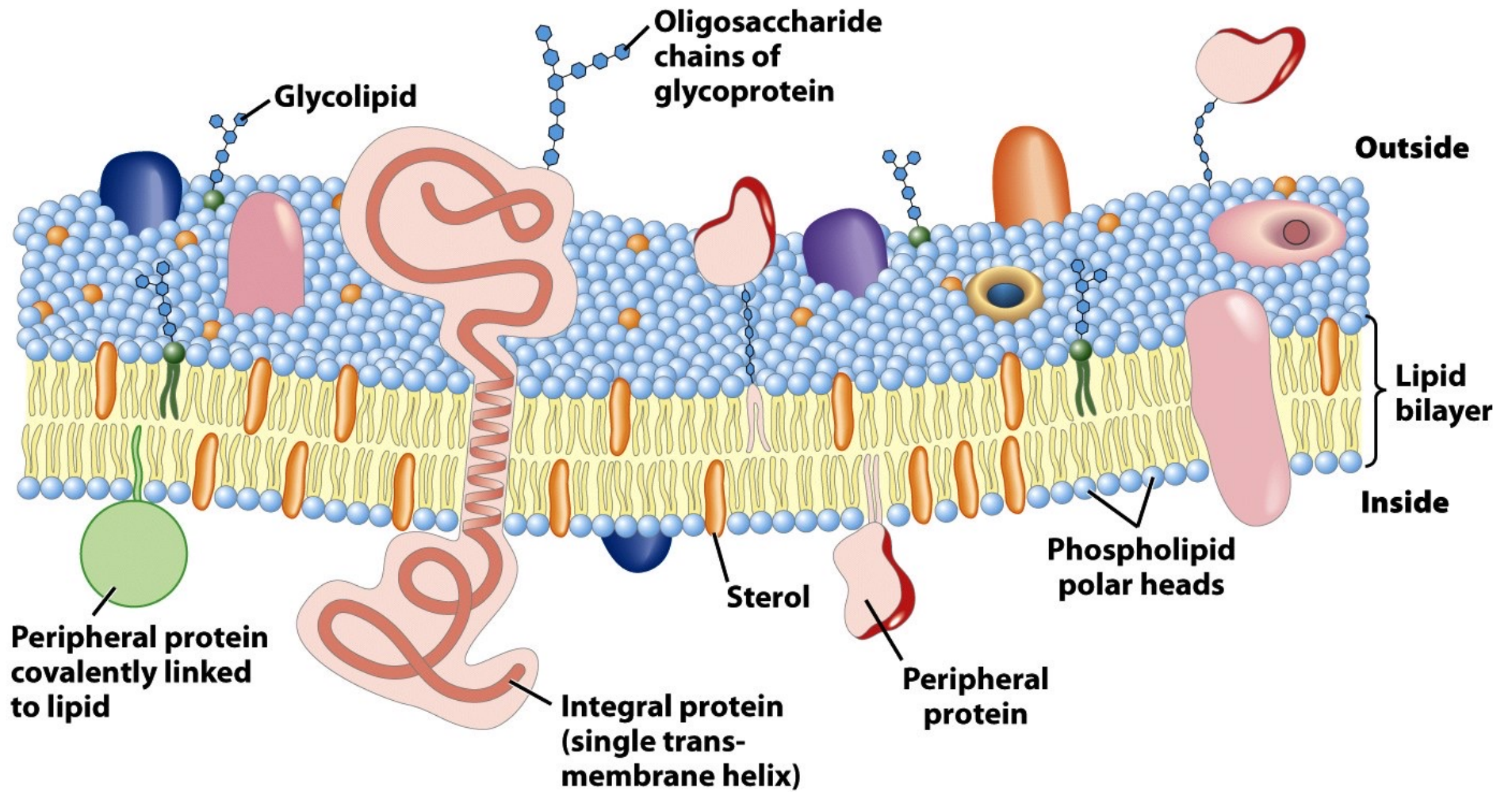


Figure 11-3
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Biochimie Membranaire

Introduction - Rôles et importance des membranes biologiques



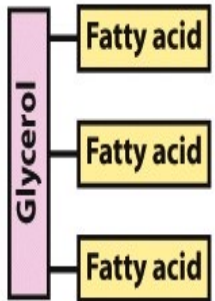
1- Lipides et protéines membranaires / dynamique membranaire

2- Etude expérimentale des protéines membranaires

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

Lipides de réserves

Triacylglycerols

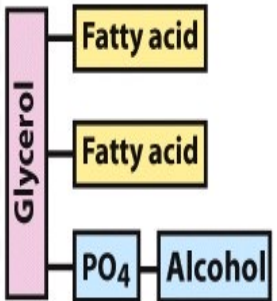


~~Amphiphile~~

Lipides membranaires

Phospholipids

Glycerophospholipids

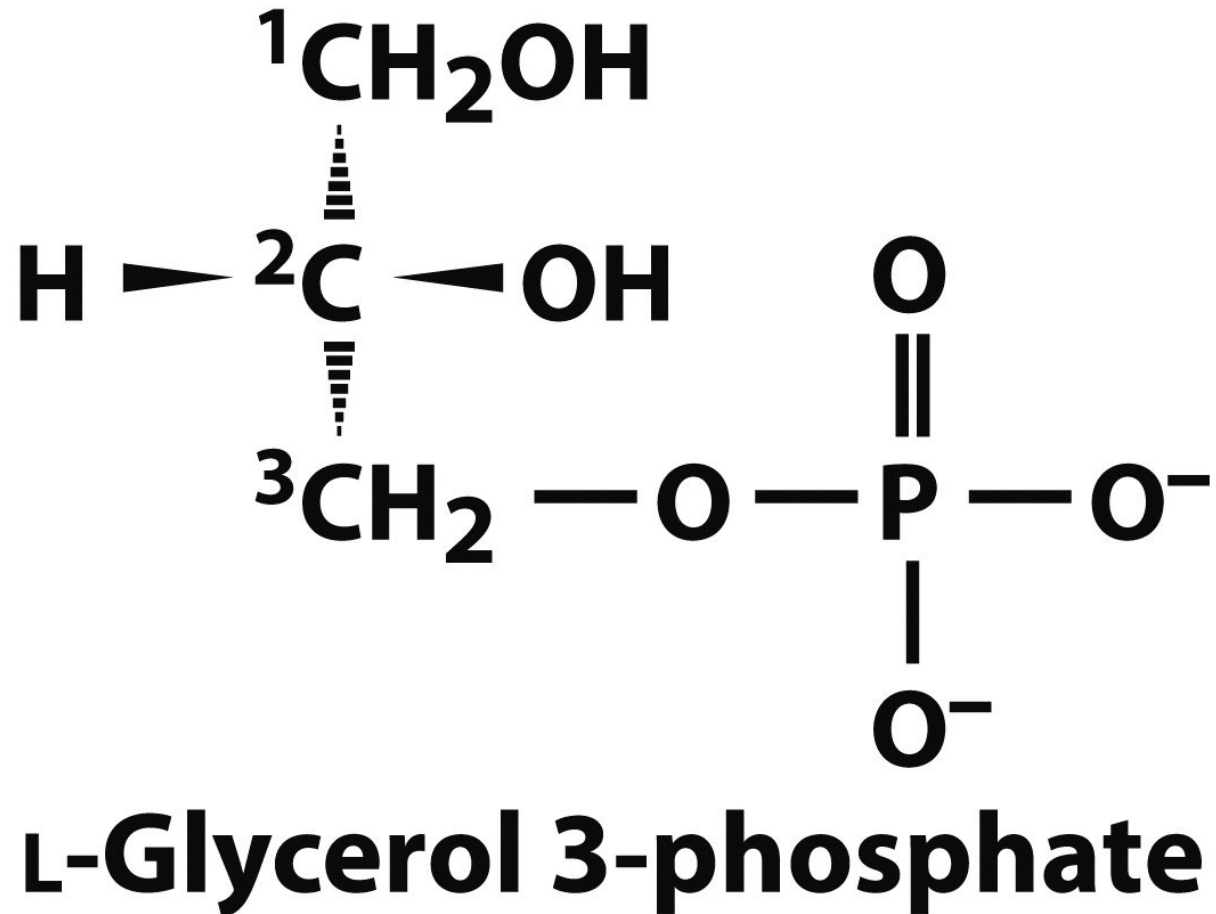


Amphiphile

Glycolipids

Cholesterol

Les Glycerophospholipides



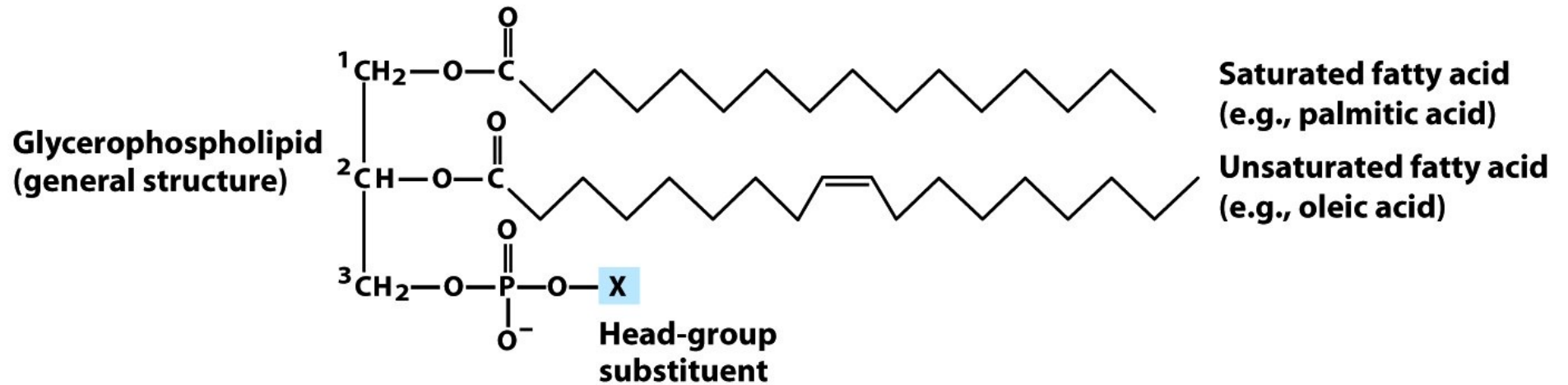
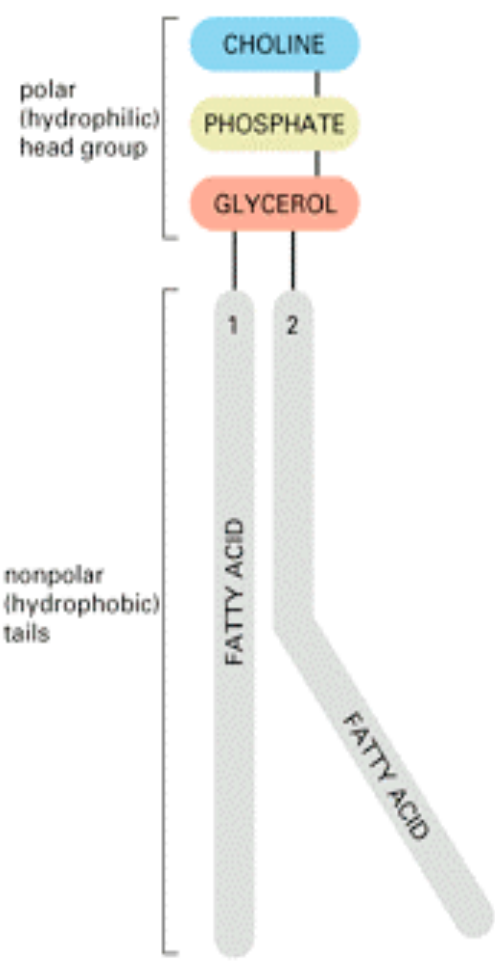


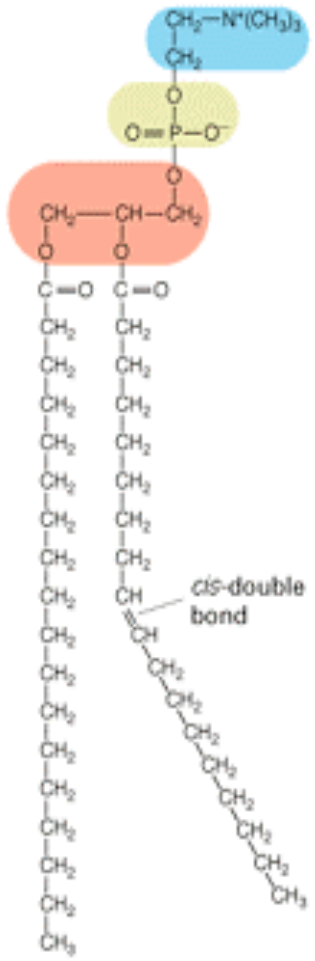
Figure 10-9 part 1

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company



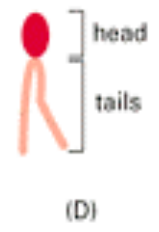
(A)

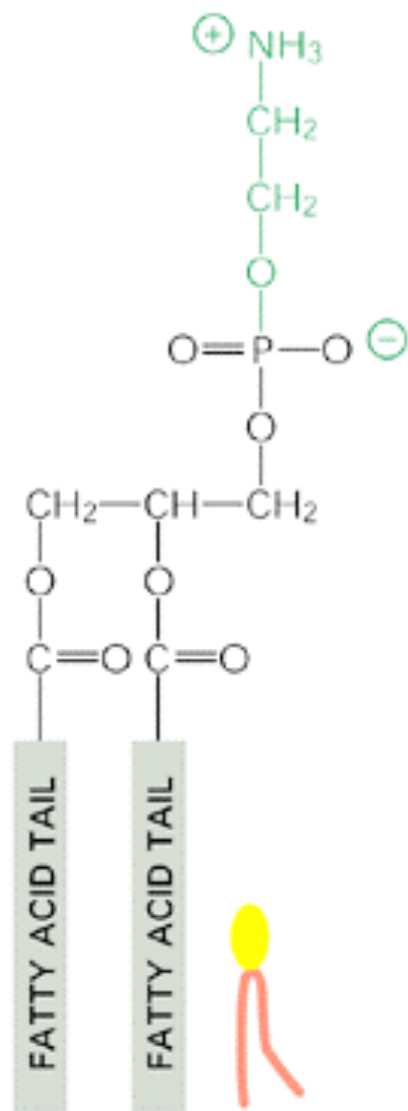


(B)

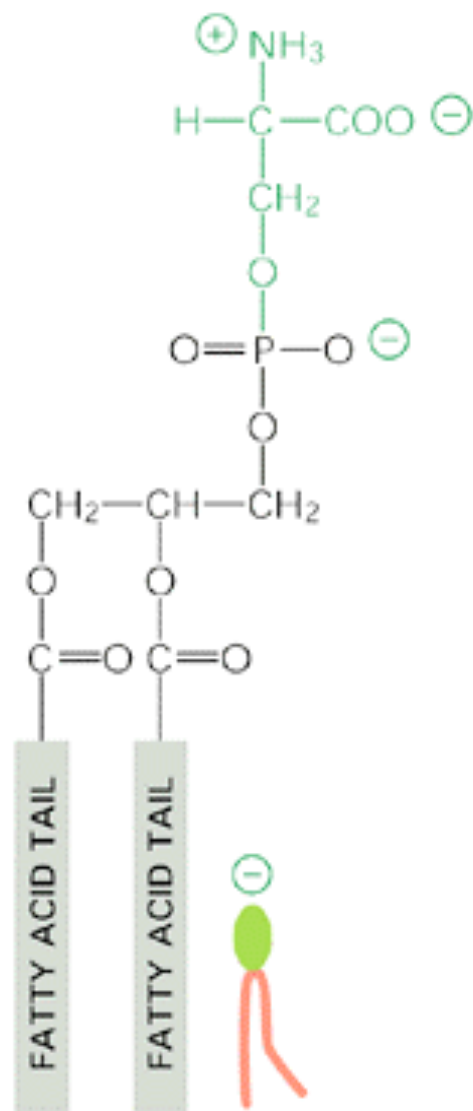


(C)

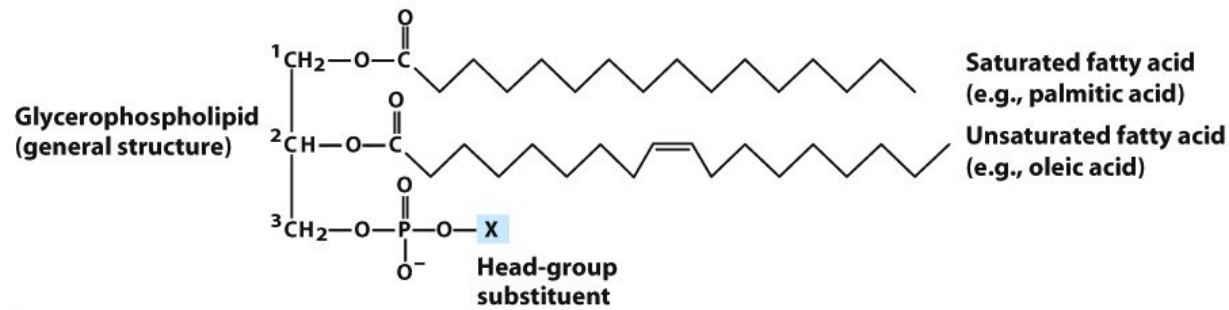




phosphatidylethanolamine



phosphatidylserine



Name of glycerophospholipid	Name of X	Formula of X	Net charge (at pH 7)
Phosphatidic acid	—	— H	- 1
Phosphatidylethanolamine	Ethanolamine	— CH ₂ —CH ₂ —NH ₃ ⁺	0
Phosphatidylcholine	Choline	— CH ₂ —CH ₂ —N ⁺ (CH ₃) ₃	0
Phosphatidylserine	Serine	— CH ₂ —CH ⁺ (NH ₃) COO ⁻	- 1
Phosphatidylglycerol	Glycerol	— CH ₂ —CH—CH ₂ —OH OH	- 1
Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate	<i>myo</i> -Inositol 4,5-bisphosphate		- 4
Cardiolipin	Phosphatidyl-glycerol	— CH ₂ CHOH CH ₂ -O-P(=O)(O ⁻)-O-CH ₂ CH-O-C(=O)-R ¹ CH ₂ -O-C(=O)-R ²	- 2

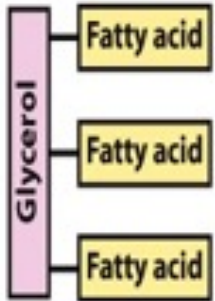
Figure 10-9

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

Lipides de réserves

Triacylglycerols



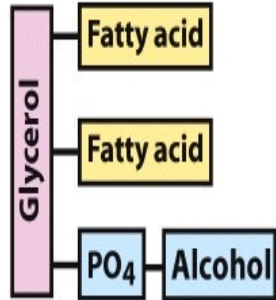
Lipides membranaires

Phospholipids

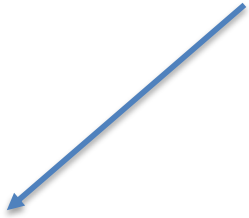
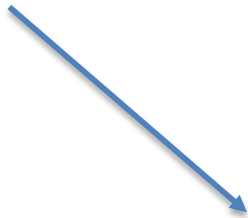
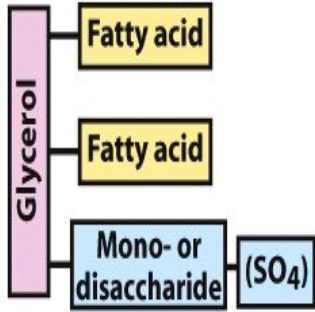
Glycolipids

Cholesterol

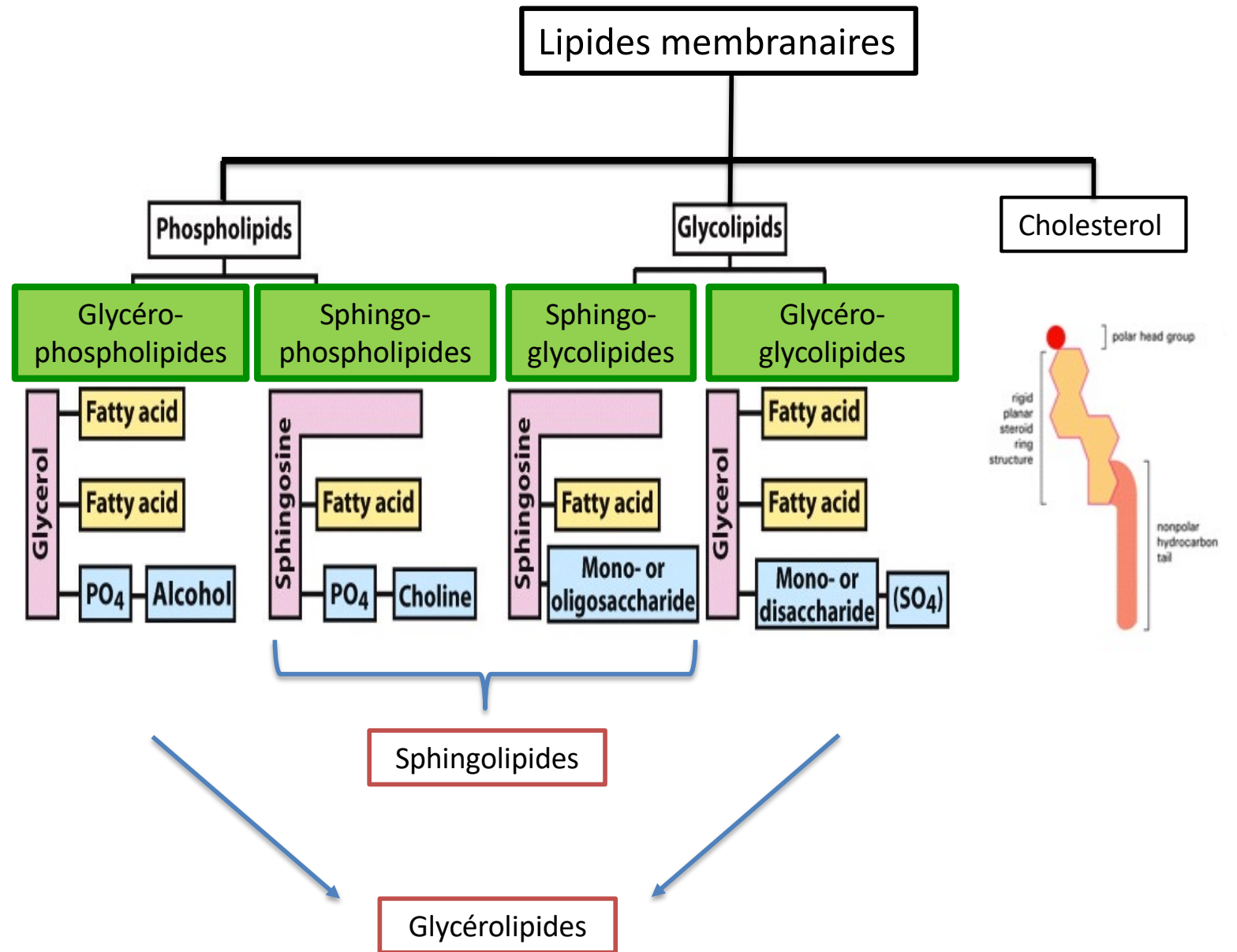
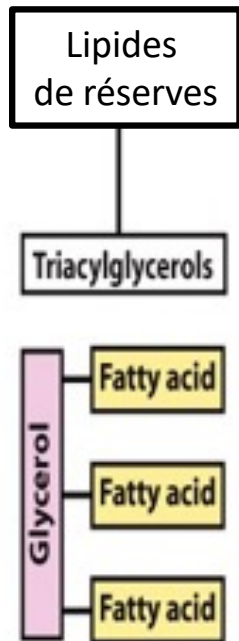
Glycero-phospholipides



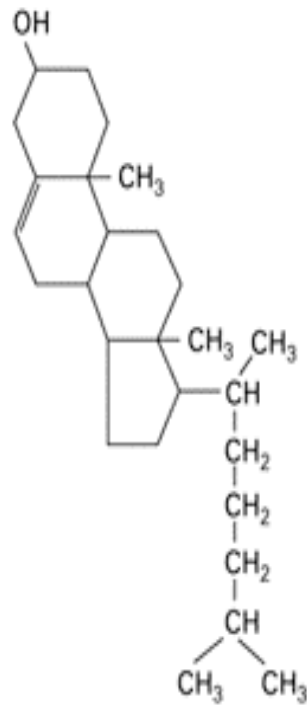
Glycero-glycolipides



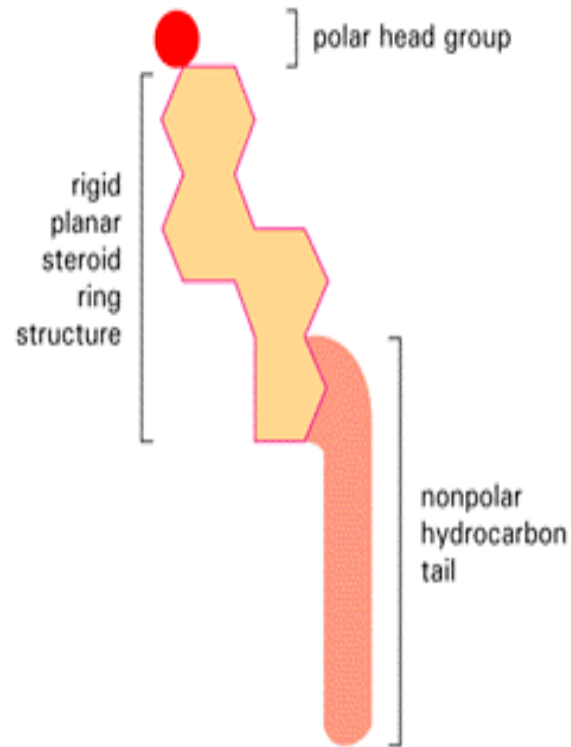
Glycérrolipides



Le Cholesterol: un lipide membranaire atypique



(A)



(B)



(C)

La composition des membranes est variable

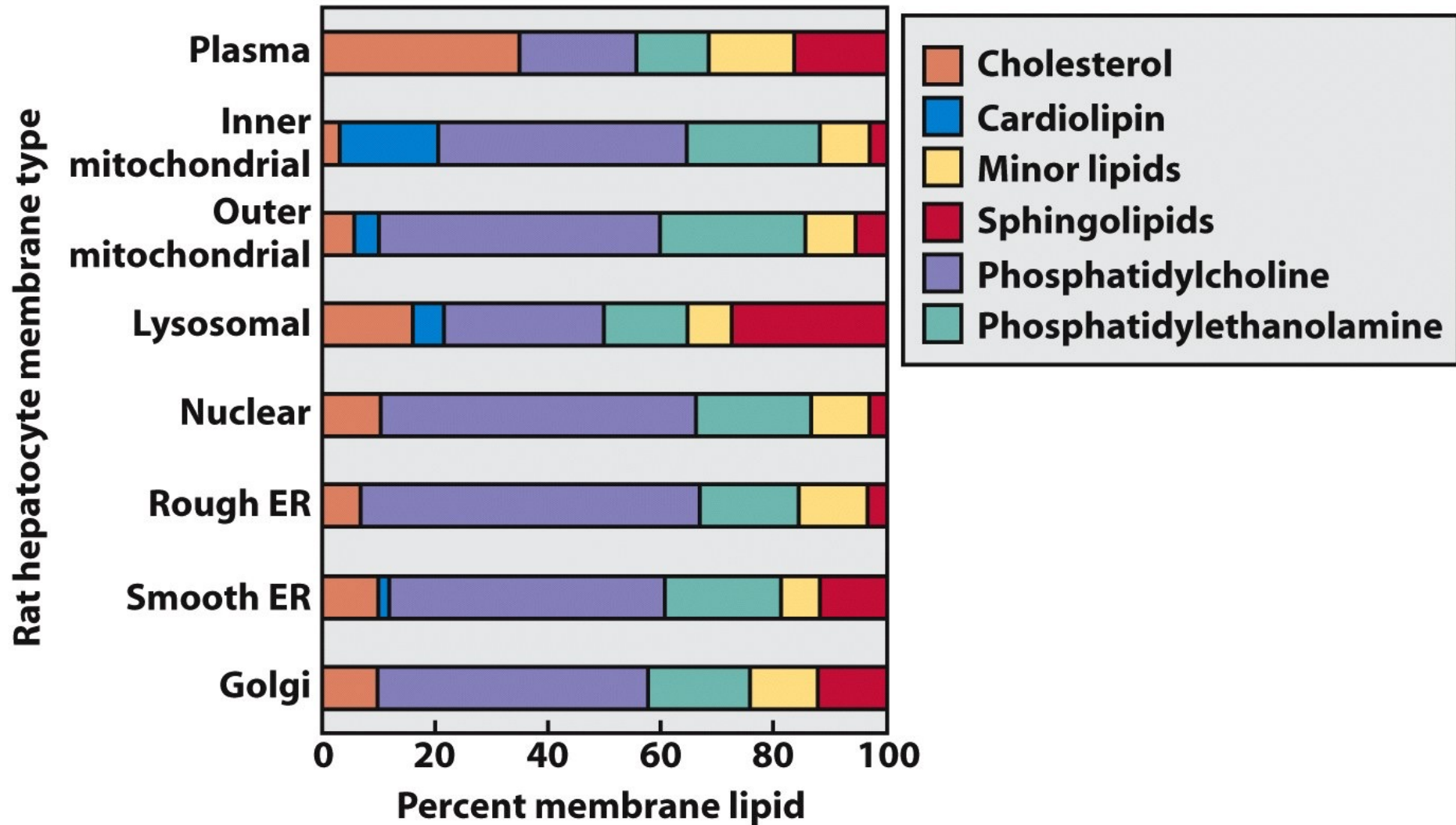


Figure 11-2

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

La variabilité des lipides est très grande
aussi en raison de la nature des chaînes carbonées

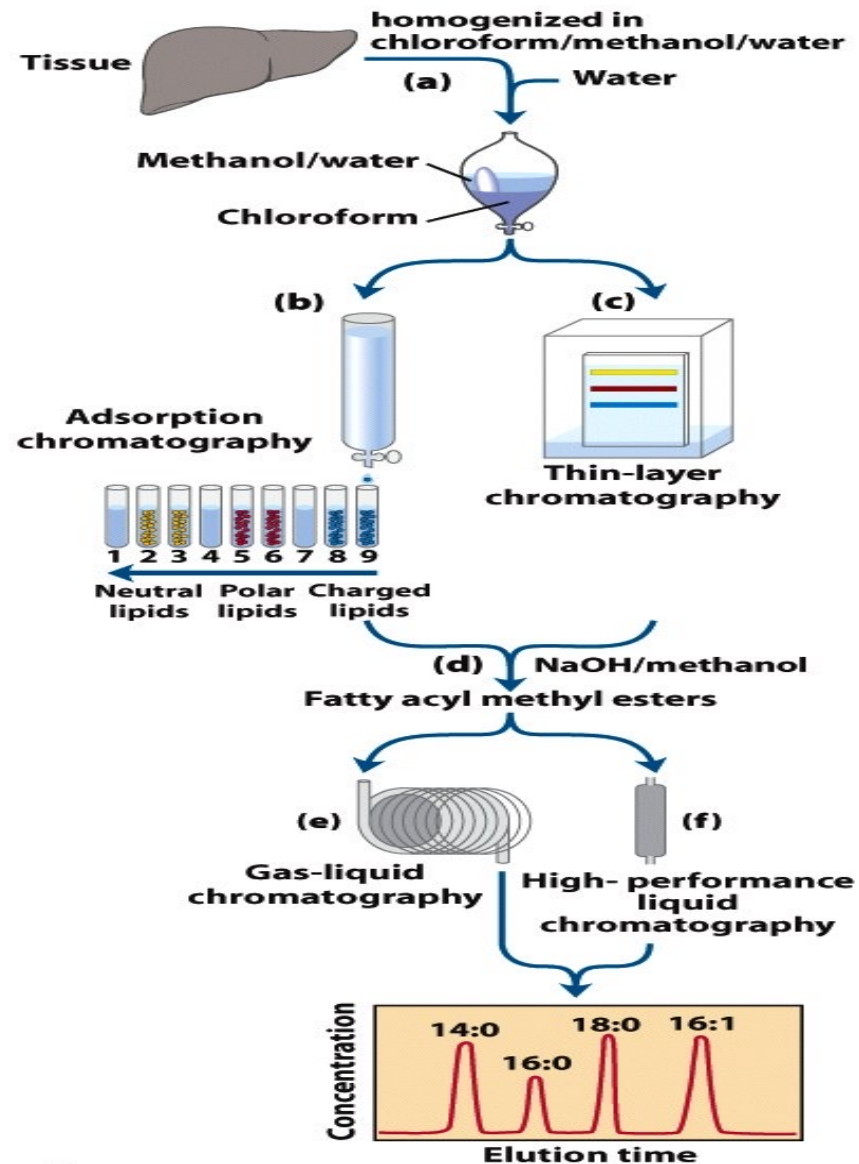


Figure 10-24

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

TABLE 10–1 Some Naturally Occurring Fatty Acids: Structure, Properties, and Nomenclature

Carbon skeleton	Structure*	Systematic name [†]	Common name (derivation)	Melting point (°C)	Solubility at 30 °C (mg/g solvent)	
					Water	Benzene
12:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COOH	<i>n</i> -Dodecanoic acid	Lauric acid (Latin <i>laurus</i> , "laurel plant")	44.2	0.063	2,600
14:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH	<i>n</i> -Tetradecanoic acid	Myristic acid (Latin <i>Myristica</i> , nutmeg genus)	53.9	0.024	874
16:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH	<i>n</i> -Hexadecanoic acid	Palmitic acid (Latin <i>palma</i> , "palm tree")	63.1	0.0083	348
18:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH	<i>n</i> -Octadecanoic acid	Stearic acid (Greek <i>stear</i> , "hard fat")	69.6	0.0034	124
20:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ COOH	<i>n</i> -Eicosanoic acid	Arachidic acid (Latin <i>Arachis</i> , legume genus)	76.5		
24:0	CH ₃ (CH ₂) ₂₂ COOH	<i>n</i> -Tetracosanoic acid	Lignoceric acid (Latin <i>lignum</i> , "wood" + <i>cera</i> , "wax")	86.0		
16:1(Δ ⁹)	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	<i>cis</i> -9-Hexadecenoic acid	Palmitoleic acid	1 to –0.5		
18:1(Δ ⁹)	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	<i>cis</i> -9-Octadecenoic acid	Oleic acid (Latin <i>oleum</i> , "oil")	13.4		
18:2(Δ ^{9,12})	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	<i>cis</i> -, <i>cis</i> -9,12-Octadecadienoic acid	Linoleic acid (Greek <i>linon</i> , "flax")	1–5		
18:3(Δ ^{9,12,15})	CH ₃ CH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	<i>cis</i> -, <i>cis</i> -, <i>cis</i> -9,12,15-Octadecatrienoic acid	α-Linolenic acid	–11		
20:4(Δ ^{5,8,11,14})	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH=CHCH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₃ COOH	<i>cis</i> -, <i>cis</i> -, <i>cis</i> -, <i>cis</i> -5, 8, 11, 14-Icosatetraenoic acid	Arachidonic acid	–49.5		

*All acids are shown in their nonionized form. At pH 7, all free fatty acids have an ionized carboxylate. Note that numbering of carbon atoms begins at the carboxyl carbon.

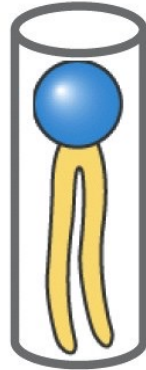
[†]The prefix *n*- indicates the "normal" unbranched structure. For instance, "dodecanoic" simply indicates 12 carbon atoms, which could be arranged in a variety of branched forms; "*n*-dodecanoic" specifies the linear, unbranched form. For unsaturated fatty acids, the configuration of each double bond is indicated; in biological fatty acids the configuration is almost always *cis*.

Table 10-1

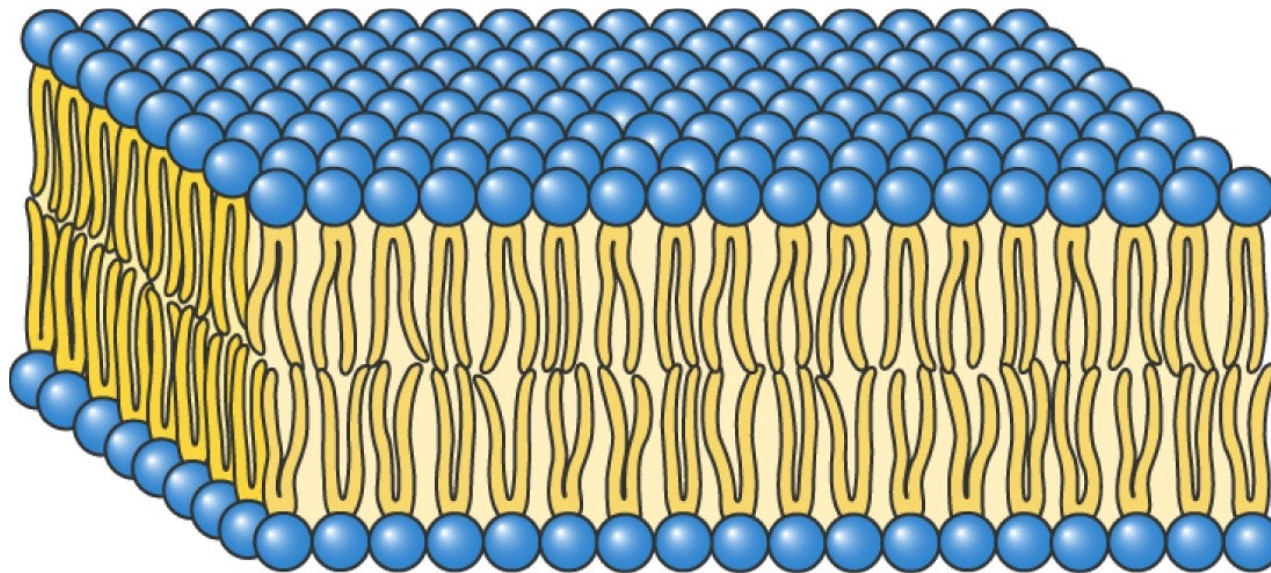
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

La forme des molécules de lipide détermine leur organisation en milieu aqueux



Individual units are cylindrical (cross section of head equals that of side chain)



Bilayer

Organisation en liposome unilamellaire

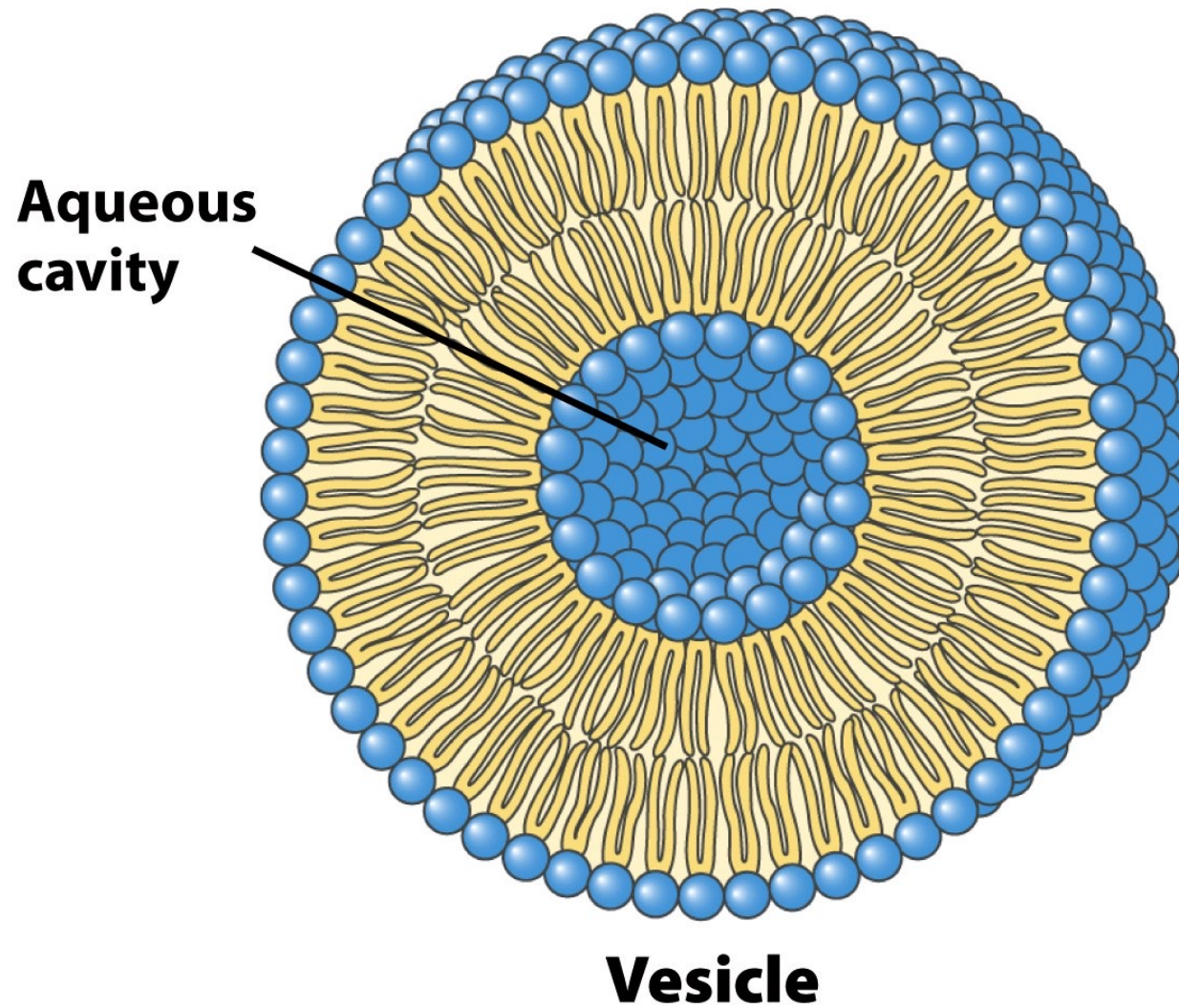
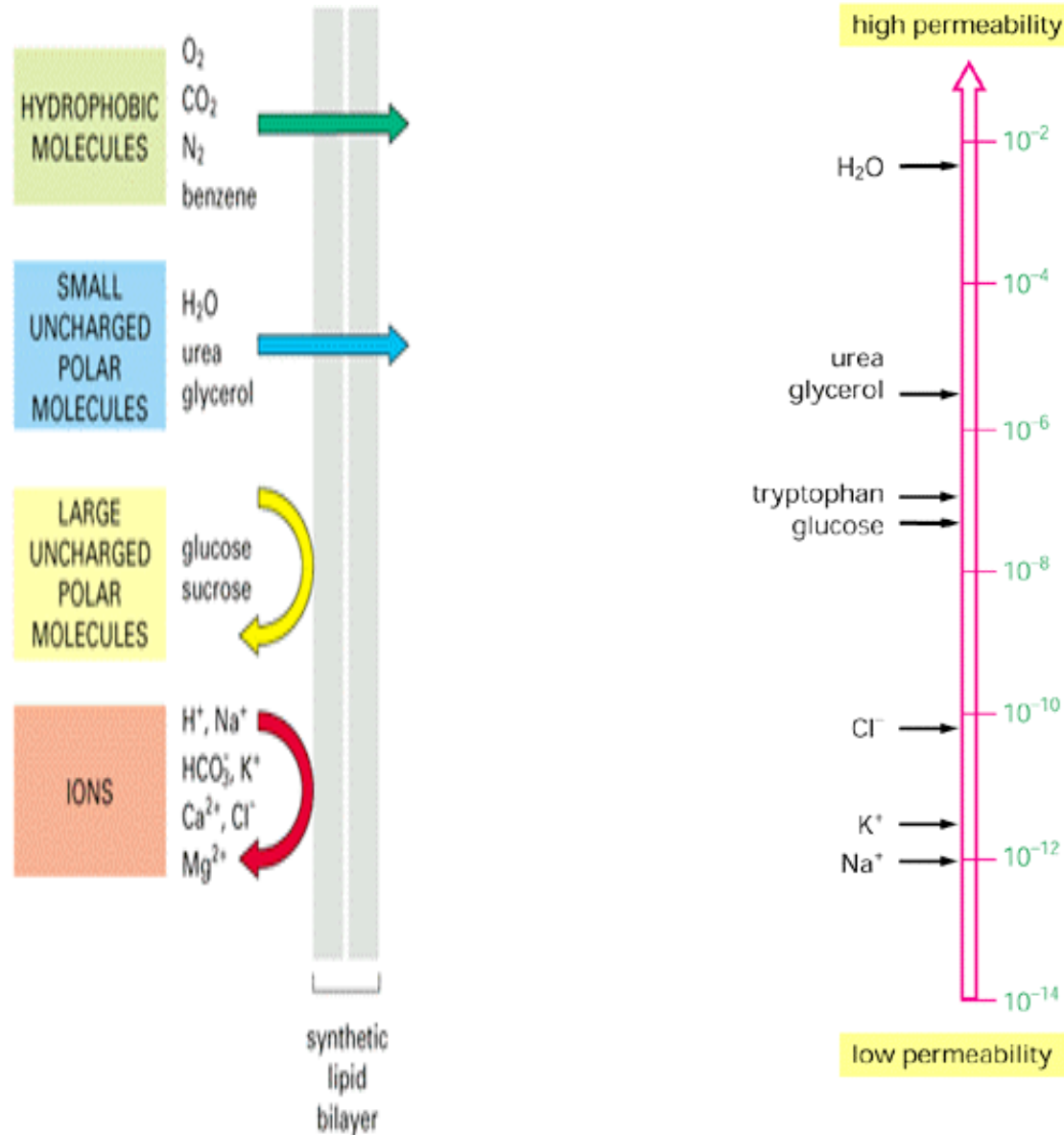
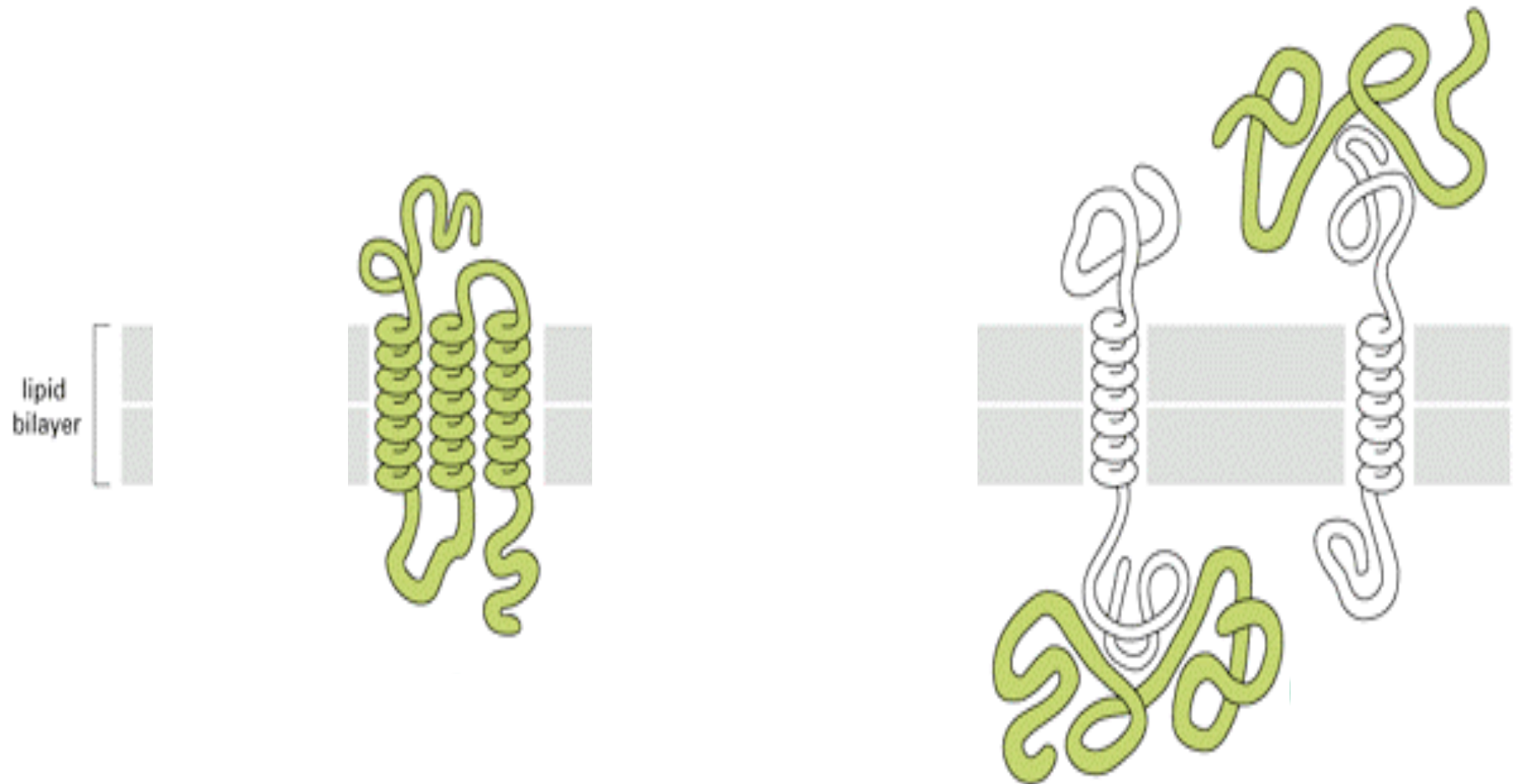


Figure 11-4c
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

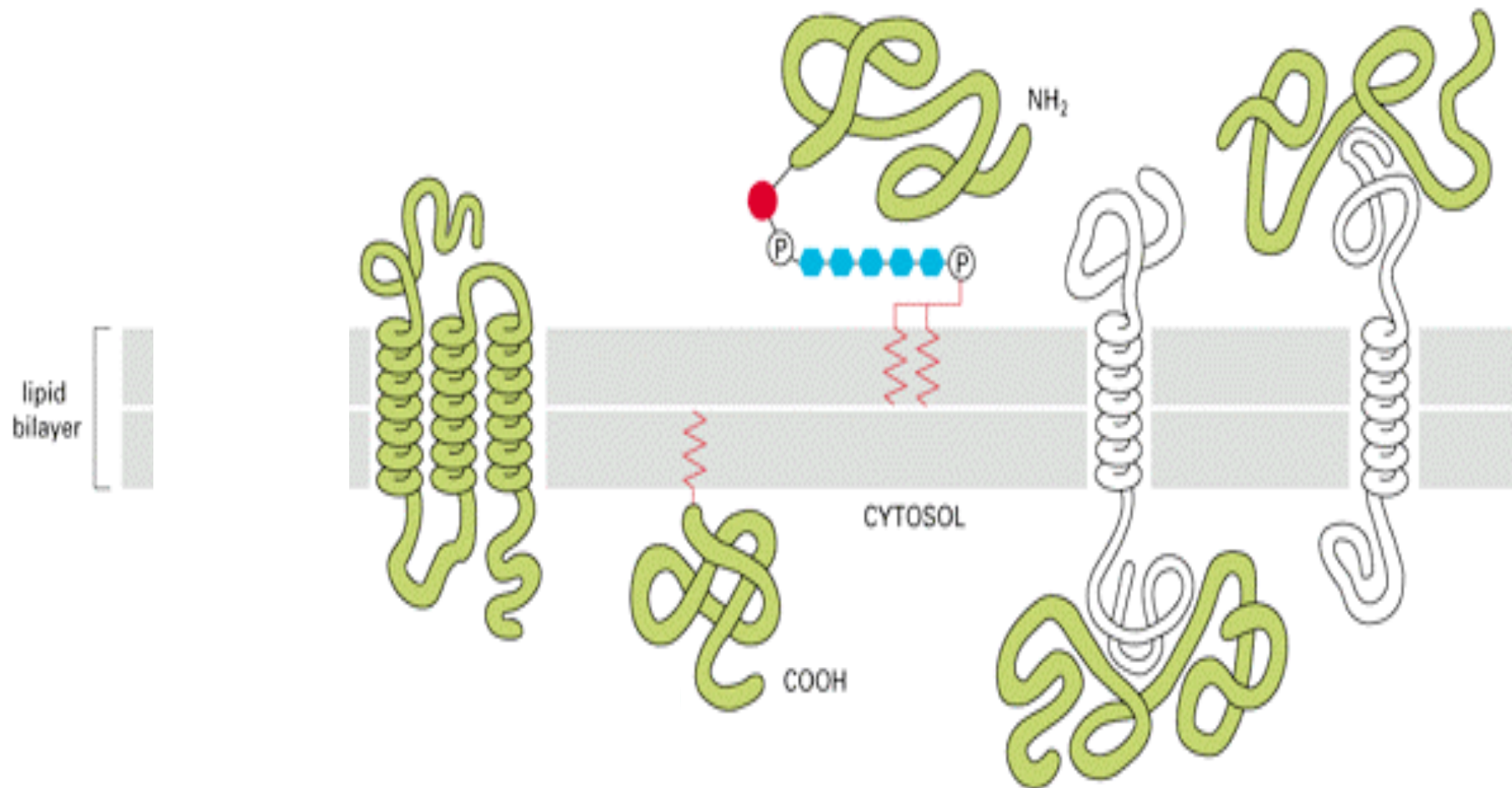
Une bicouche de lipides forme une barrière très efficace contre la diffusion des solutés hydrophiles



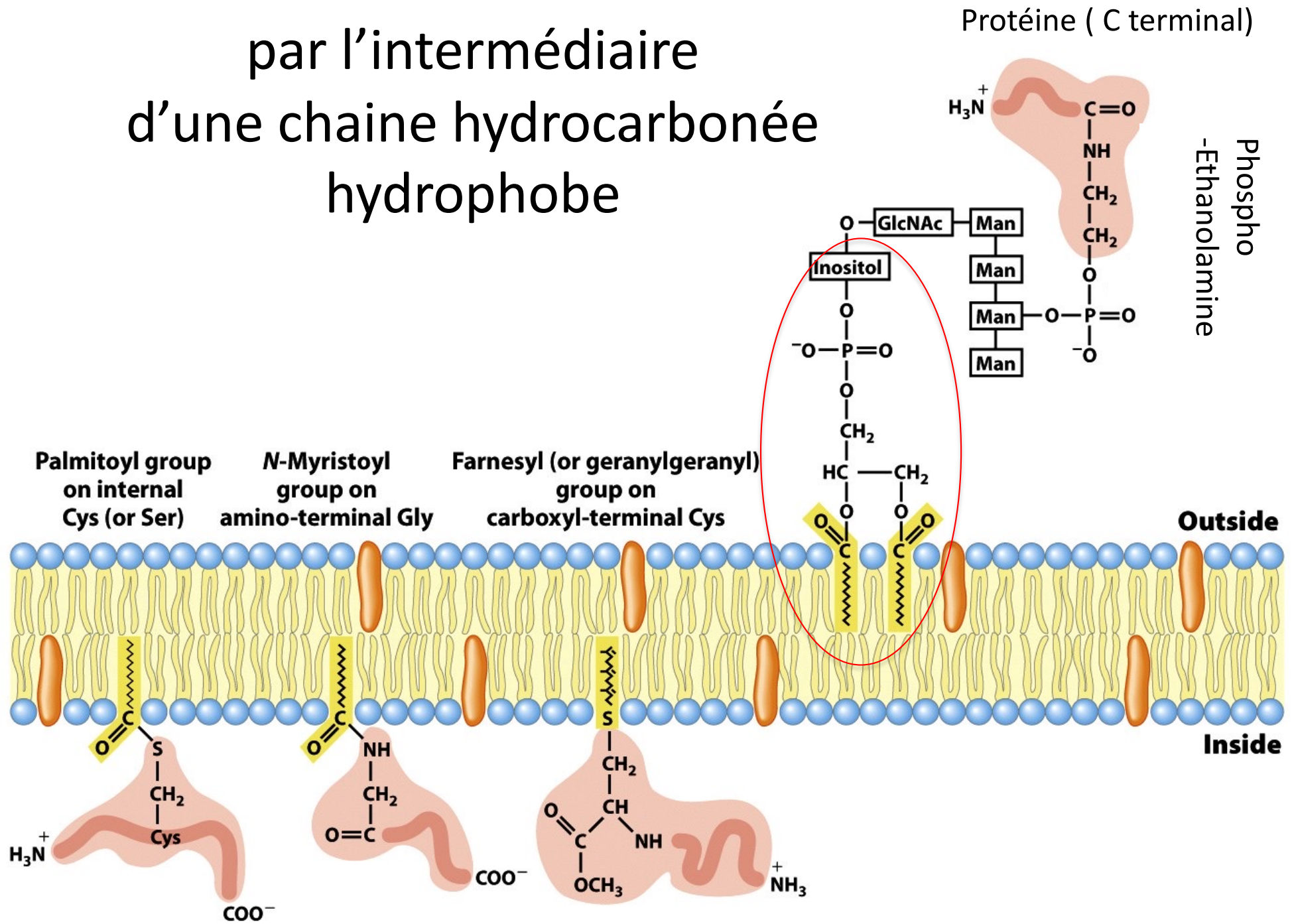
Protéines intégrales et protéines périphériques



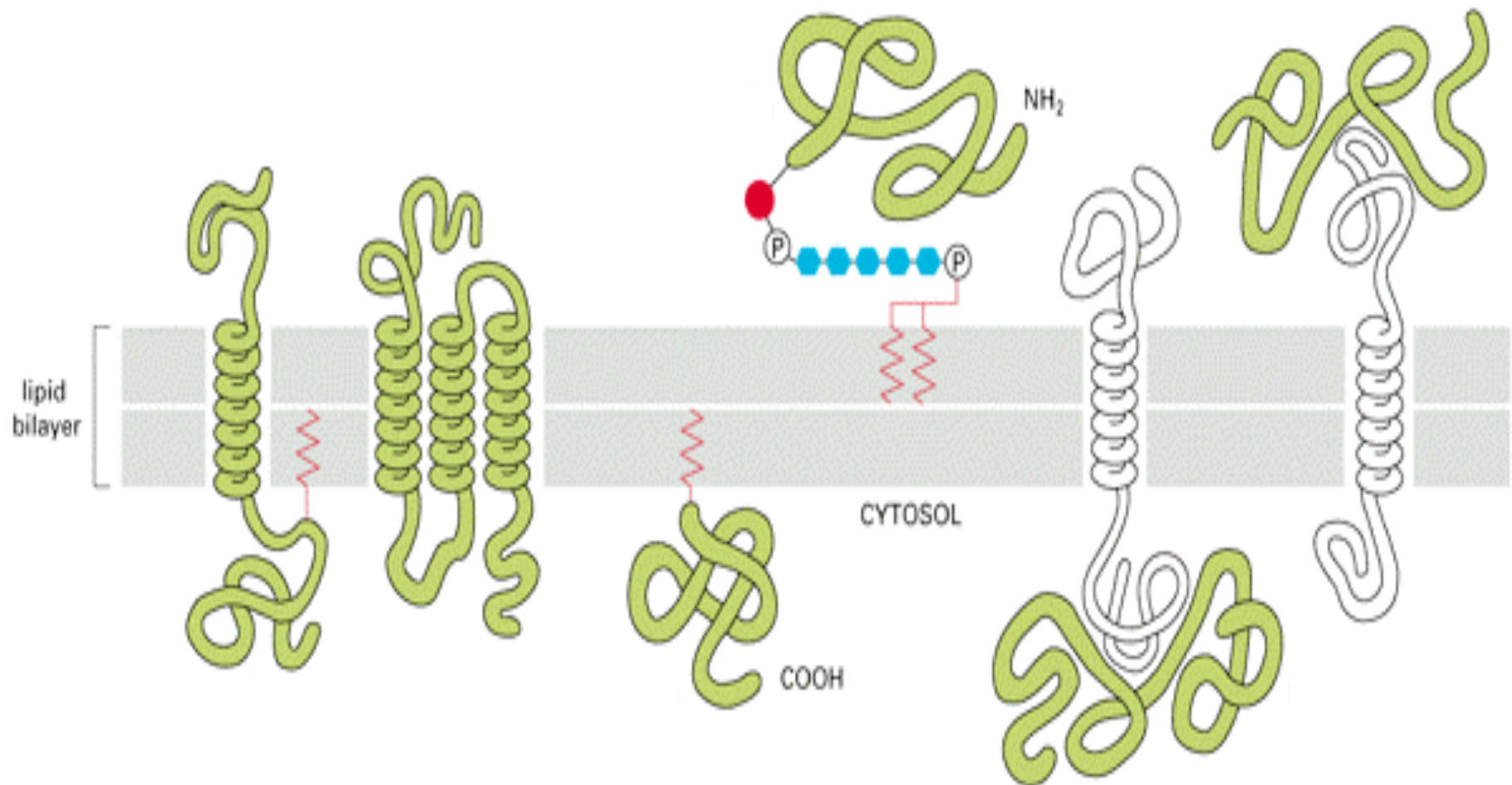
Protéines intégrales et protéines périphériques



Protéines ancrées dans la membrane par l'intermédiaire d'une chaîne hydrocarbonée hydrophobe

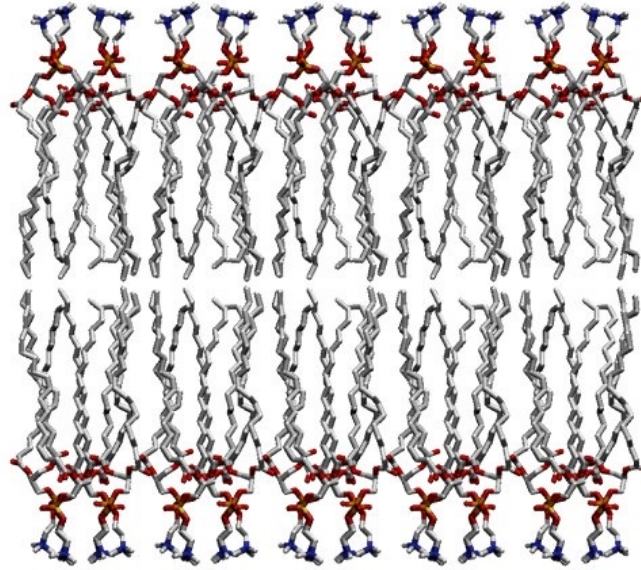


Protéines intégrales et protéines périphériques

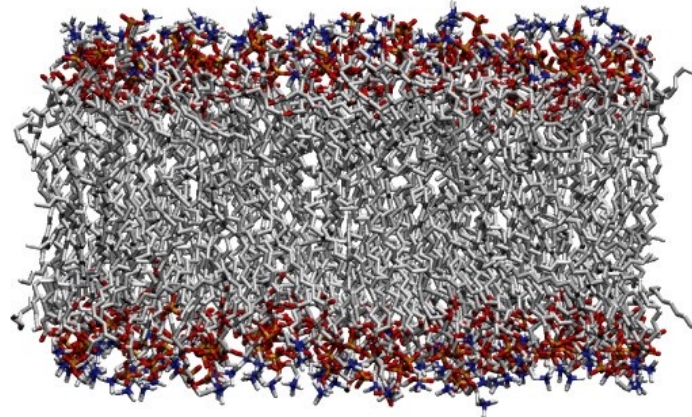


La fluidité de la membrane

(a) Paracrystalline state (gel)



(b) Fluid state



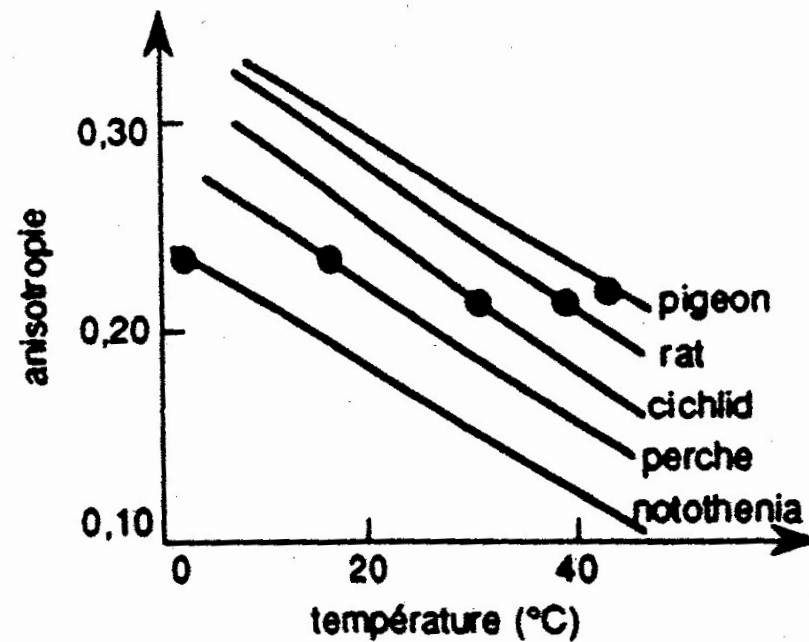
↑ Heat produces thermal
motion of side chains
↓ (gel → fluid transition)

Figure 11-15
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Régulation de la fluidité

régulation dite homéostatique

Figure 6.14. *Variation de la fluidité membranaire en fonction de la température.* Des membranes neuronales sont obtenues à partir de divers animaux ayant des températures corporelles ou d'acclimatation très différentes. La fluidité de ces membranes en fonction de la température est déterminée en mesurant l'anisotropie de fluorescence du DPH. Le point noir sur chaque courbe représente la température corporelle ou d'acclimatation de l'espèce en question.
(D'après Behan-Martin, M.K., Jones, G.R., Bowler, K. et Cossins, A.R. (1993) *Biochim. Biophys. Acta* 1151, 216-222).



Fluidité et adaptation à l'alcool

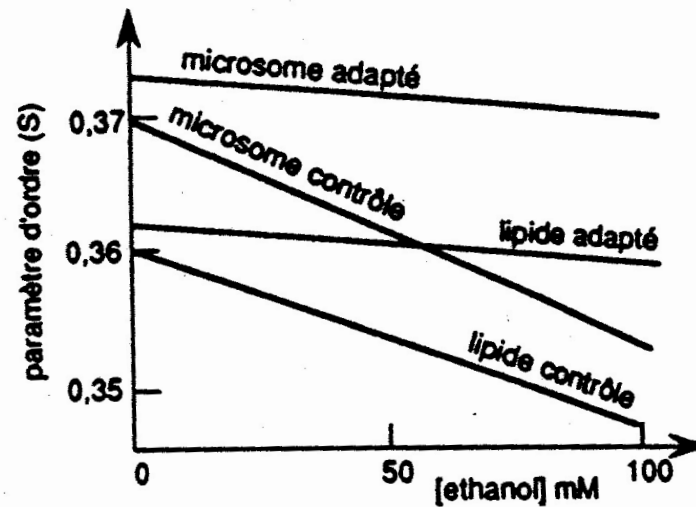


Figure 6.14. Effet de l'alcool sur la fluidité membranaire *in vitro*. Des microsomes sont isolés de rats témoins (contrôle) ou de rats adaptés à l'alcool (adapté). On y insère un acide gras portant un radical nitroxyde attaché de manière covalente. La fluidité est déterminée à partir du paramètre d'ordre S. Les expériences sont répétées sur des extraits lipidiques totaux. (D'après Taraschi, T.F., Ellington, J.S., Wu, A., Zimmerman, R. et Rubin, E. (1986) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 83, 3669-3673).

Adaptation bactérienne

TABLE 11-2	Fatty Acid Composition of <i>E. coli</i> Cells Cultured at Different Temperatures			
	Percentage of total fatty acids*			
	10 °C	20 °C	30 °C	40 °C
Myristic acid (14:0)	4	4	4	8
Palmitic acid (16:0)	18	25	29	48
Palmitoleic acid (16:1)	26	24	23	9
Oleic acid (18:1)	38	34	30	12
Hydroxymyristic acid	13	10	10	8
Ratio of unsaturated to saturated [†]	2.9	2.0	1.6	0.38

Source: Data from Marr, A.G. & Ingraham, J.L. (1962) Effect of temperature on the composition of fatty acids in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **84**, 1260.

*The exact fatty acid composition depends not only on growth temperature but on growth stage and growth medium composition.

[†]Ratios calculated as the total percentage of 16:1 plus 18:1 divided by the total percentage of 14:0 plus 16:0. Hydroxymyristic acid was omitted from this calculation.

Mouvements des lipides

Uncatalyzed lateral diffusion

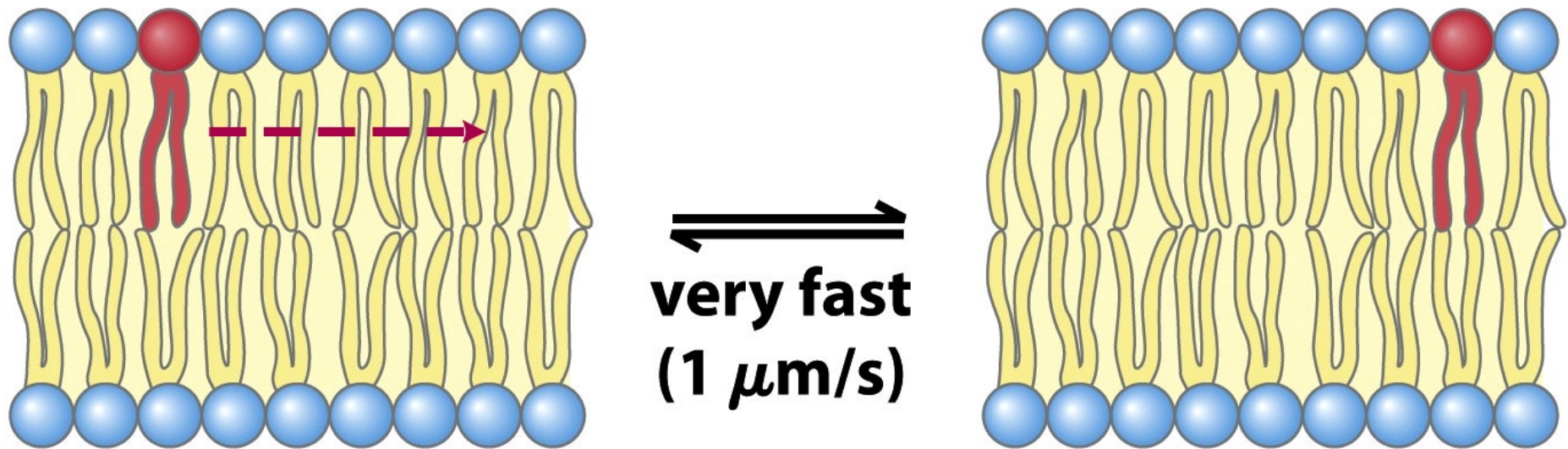


Figure 11-16b

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

Uncatalyzed transbilayer (“flip-flop”) diffusion

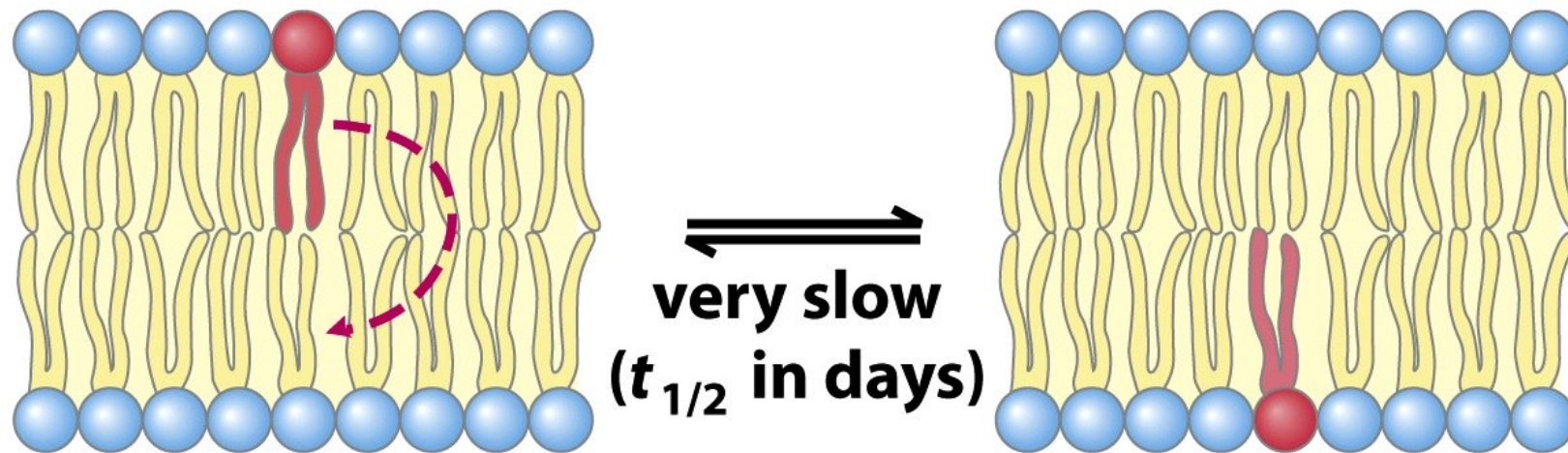
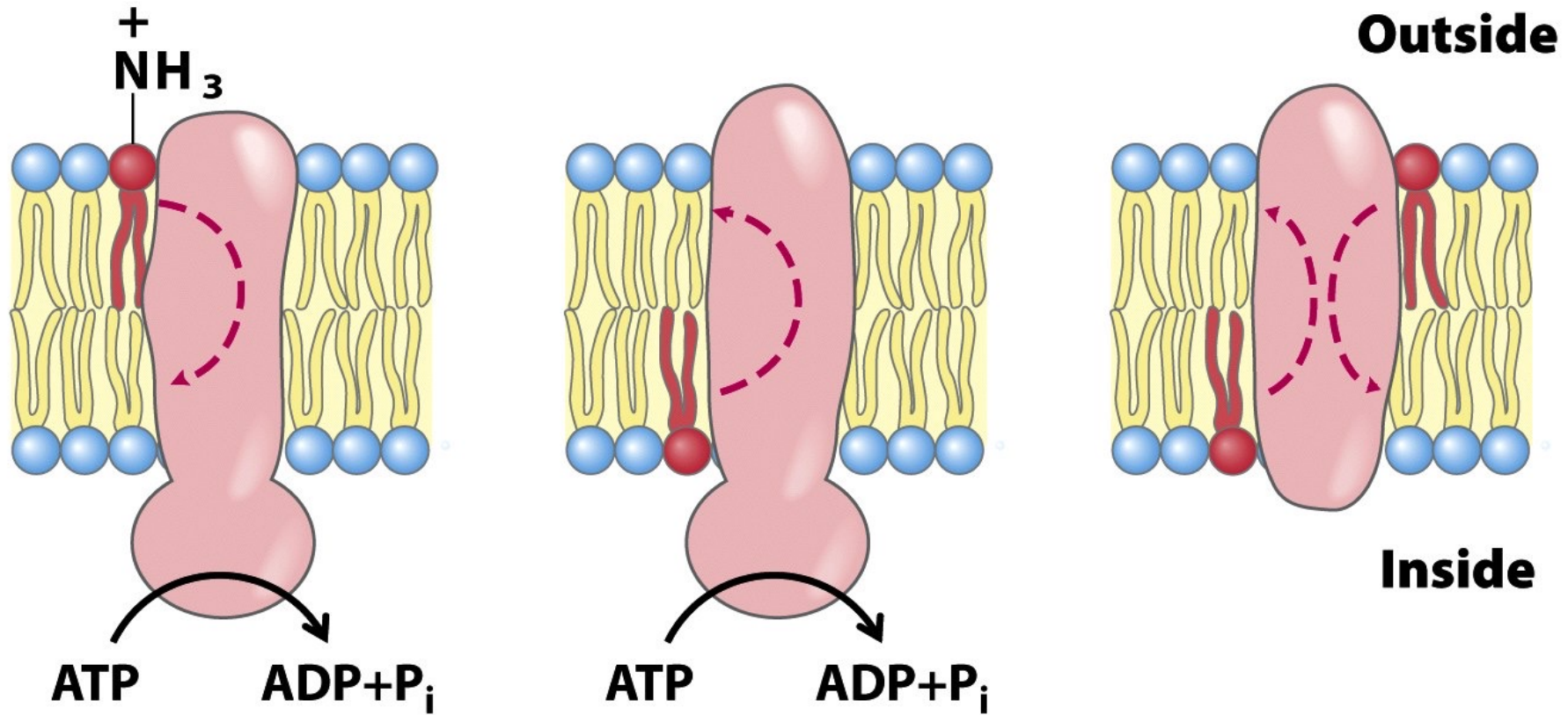


Figure 11-16a

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

Catalyzed transbilayer translocations



Flippase
(P-type ATPase)
moves PE and PS
from outer to
cytosolic leaflet

Floppase
(ABC transporter)
moves phospholipids
from cytosolic to
outer leaflet

Scramblase
moves lipids in
either direction,
toward equilibrium

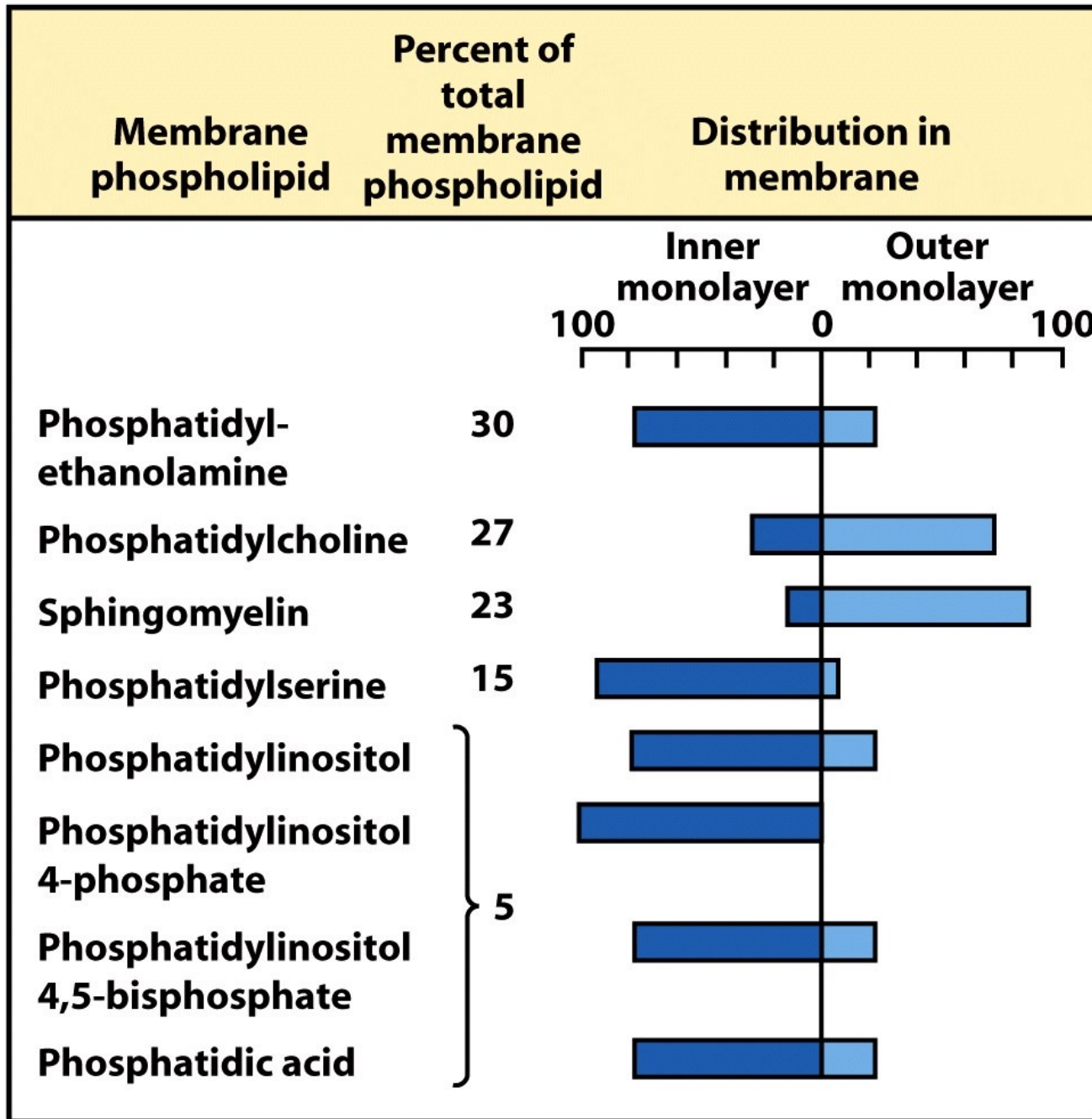
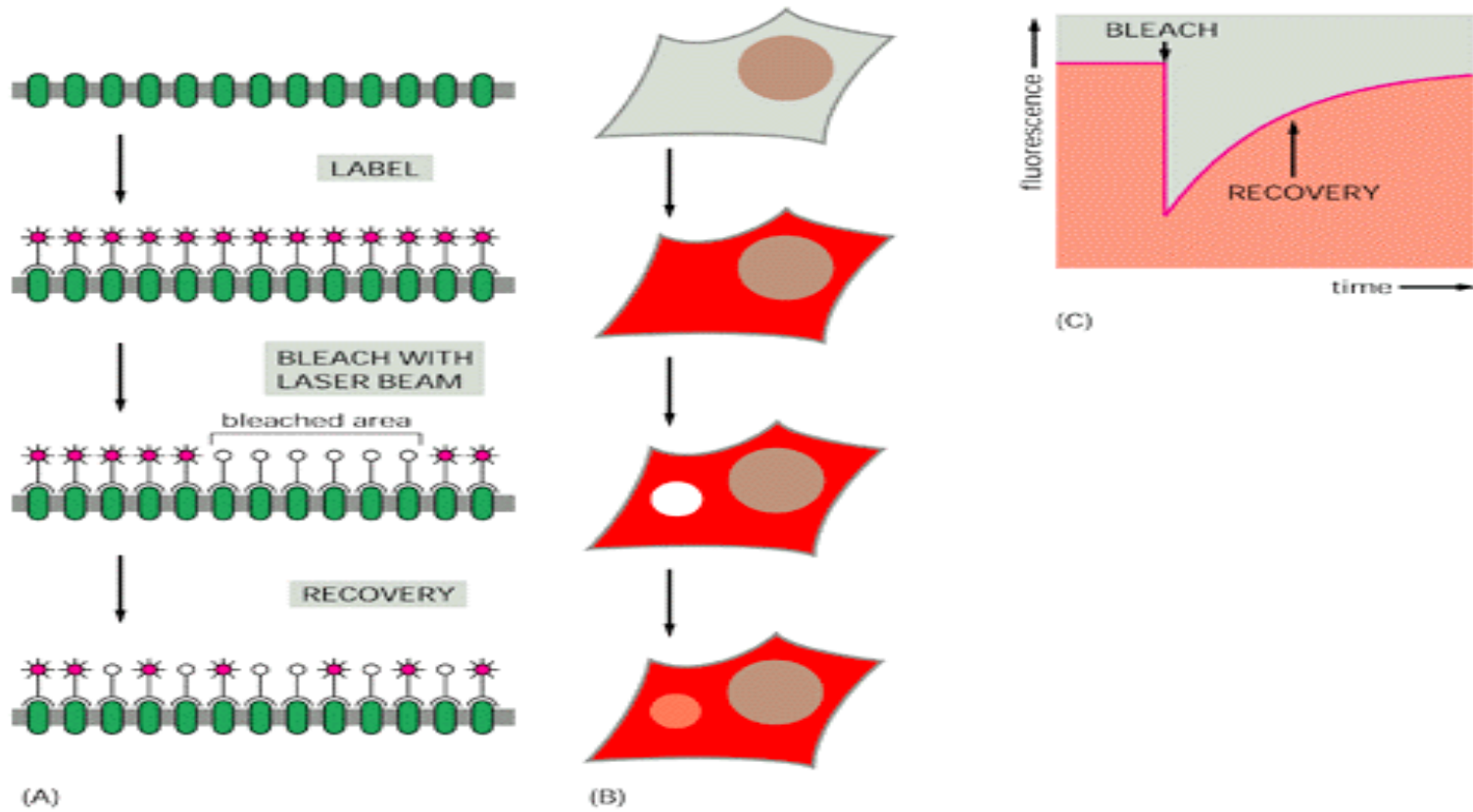
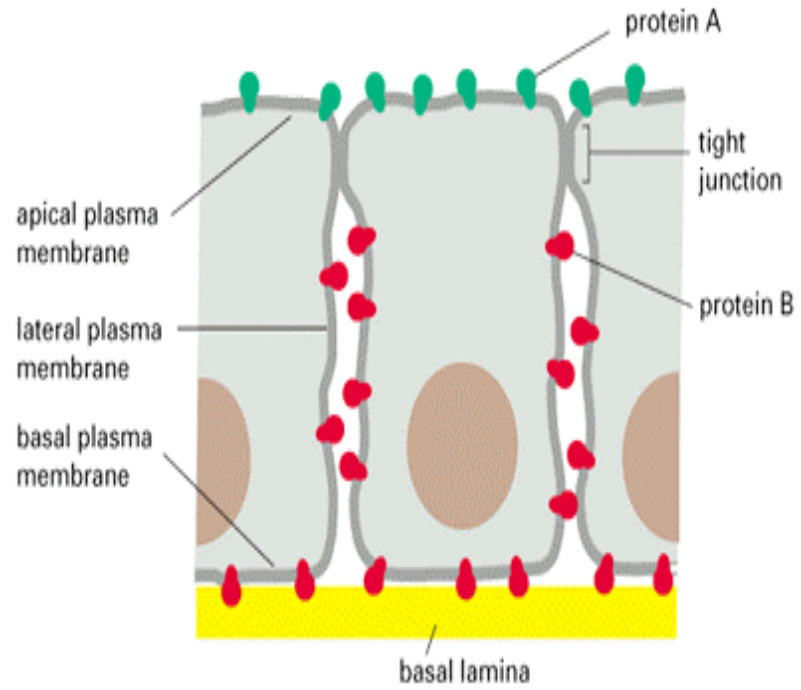


Figure 11-5
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
 © 2008 W. H. Freeman and Company

Mouvement des protéines



les jonctions serrées



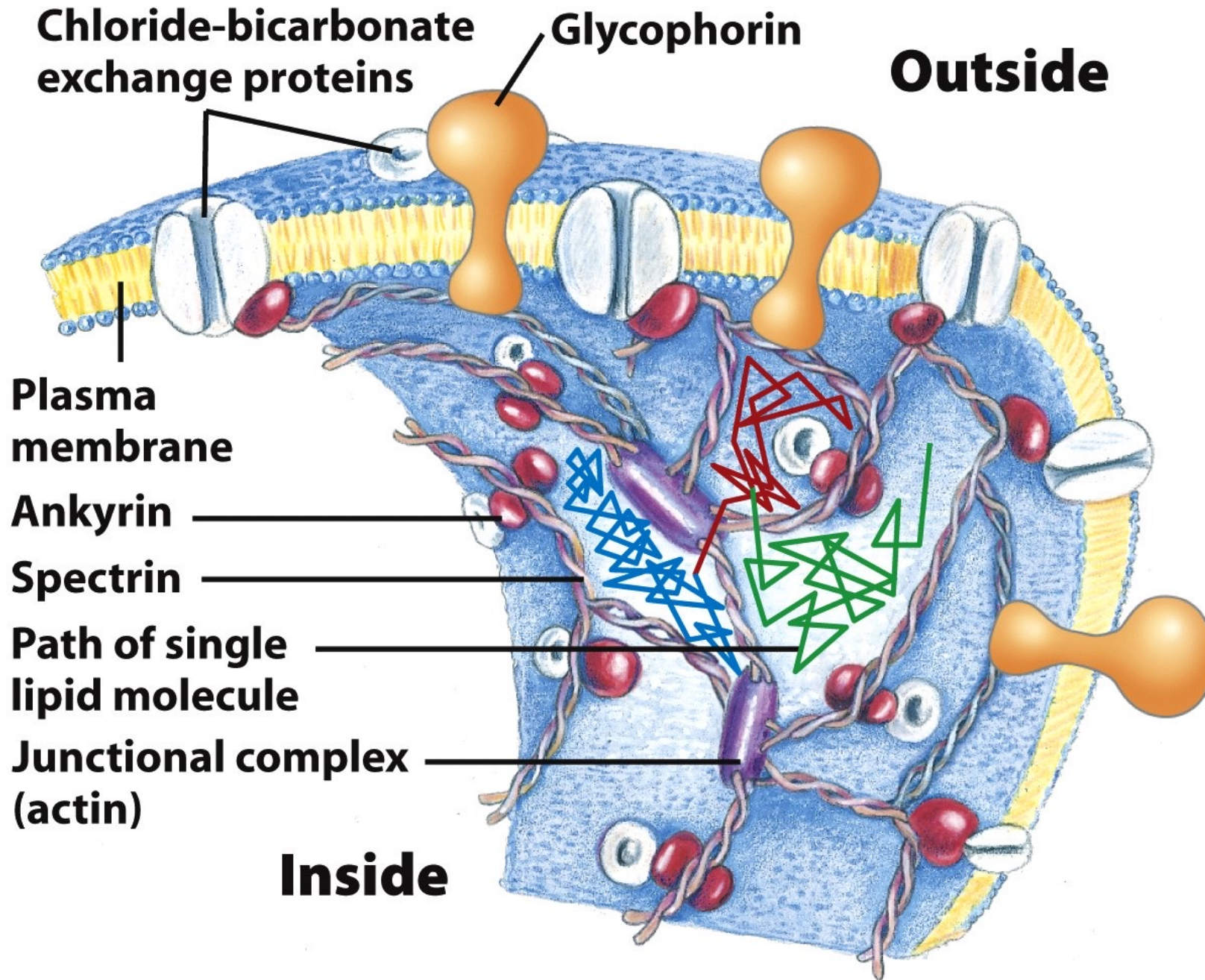
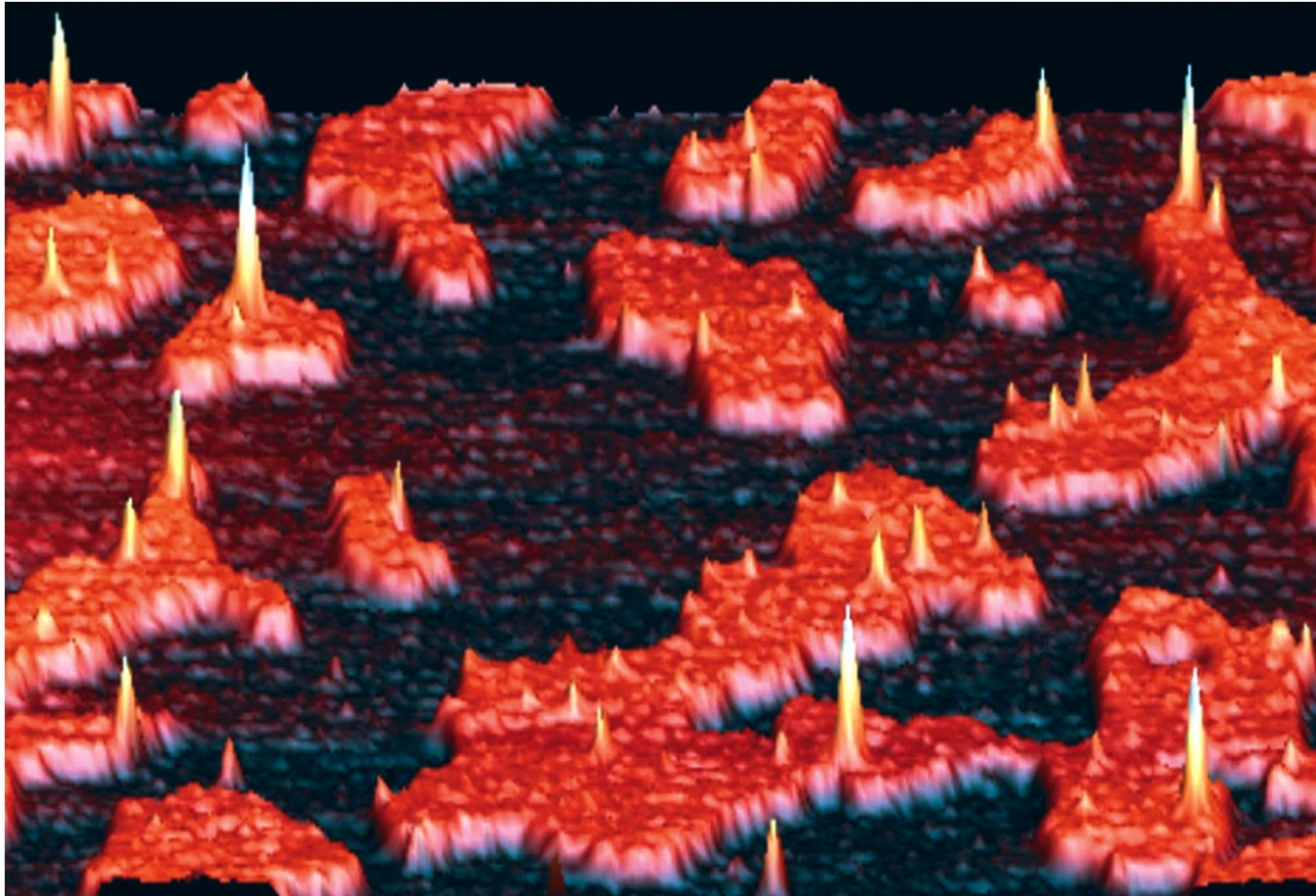
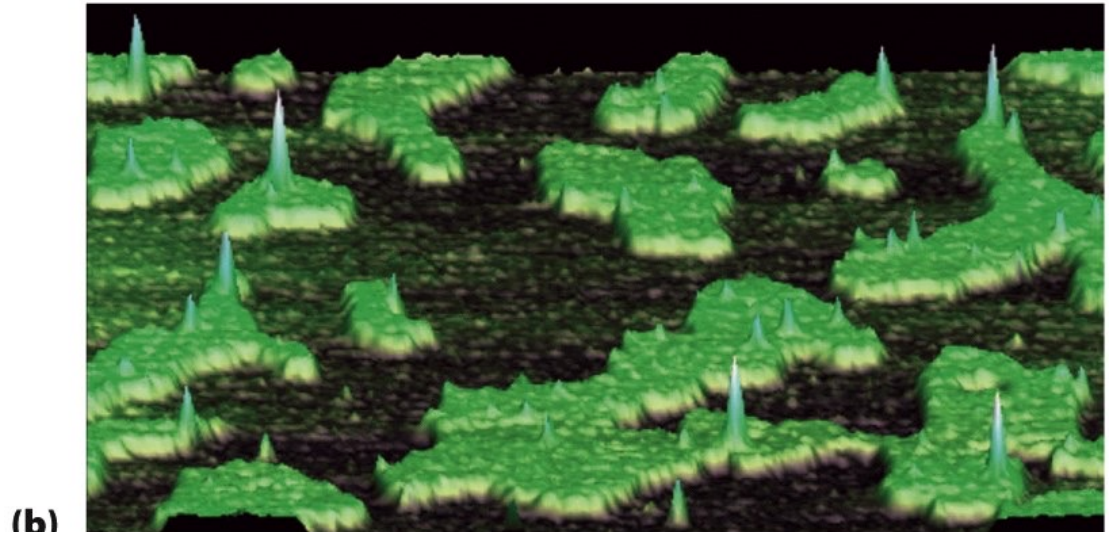
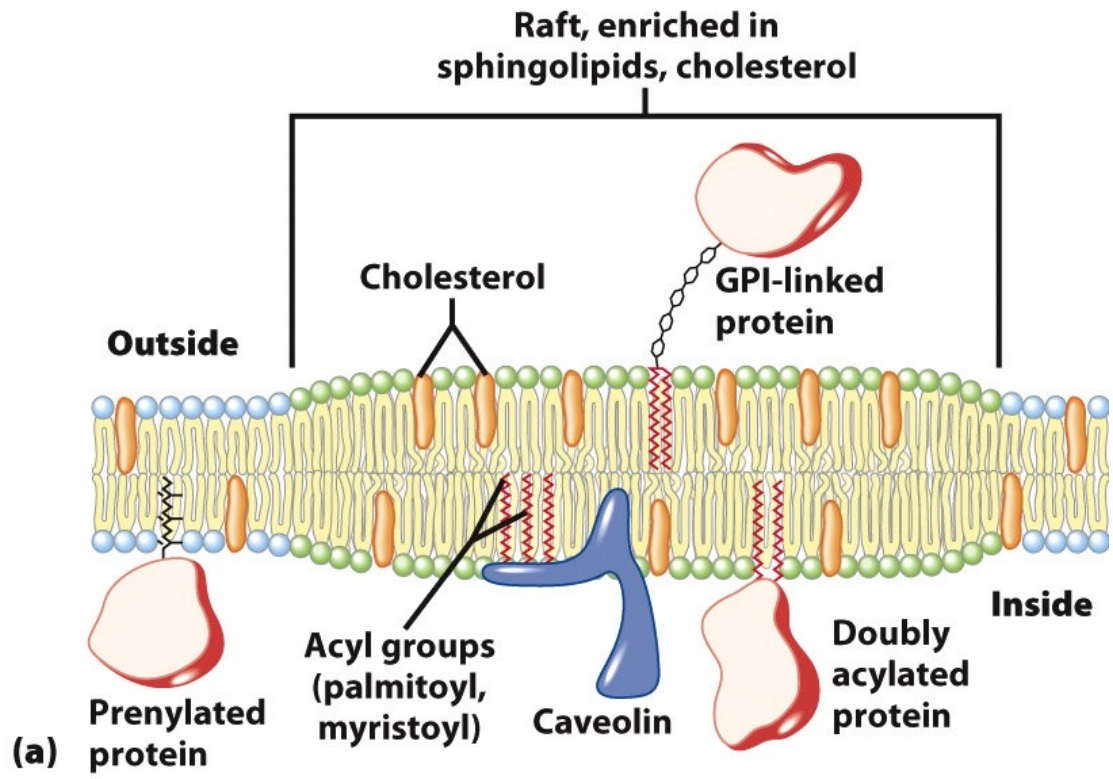
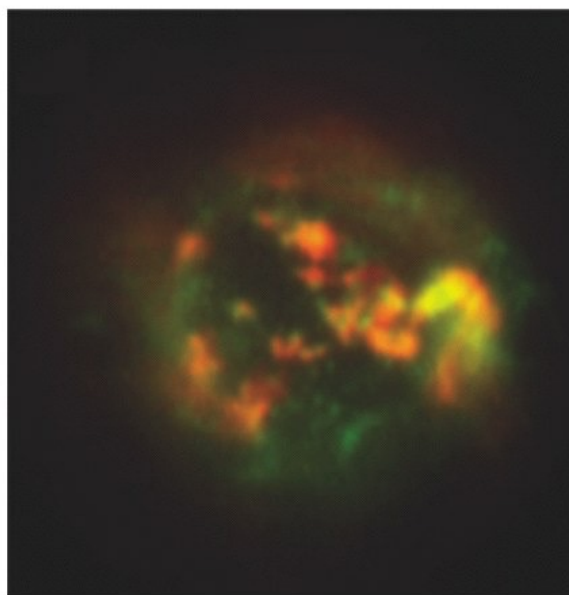
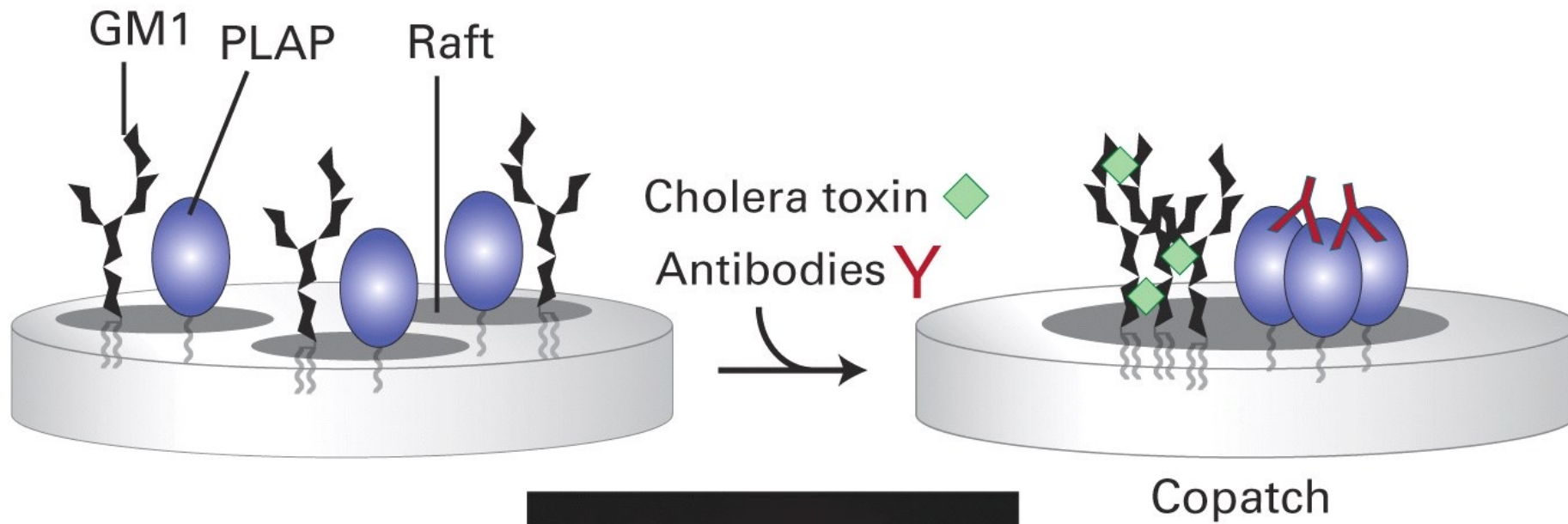


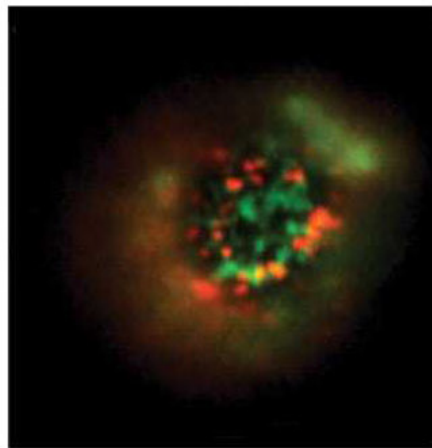
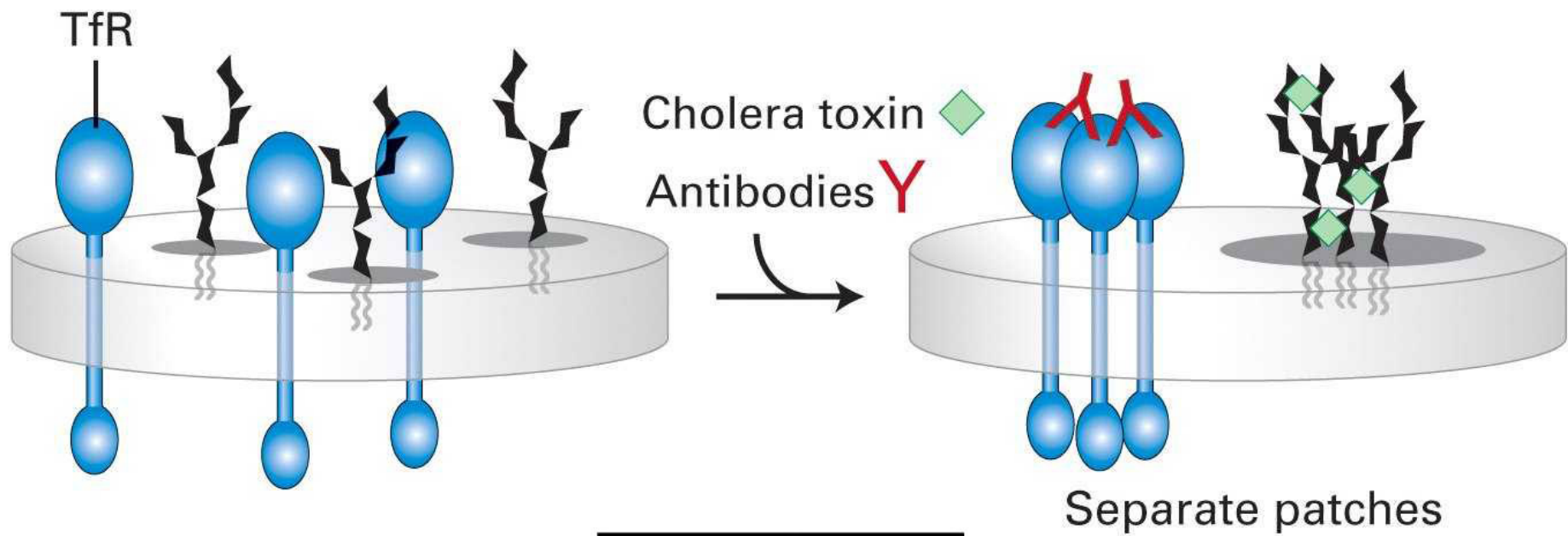
Figure 11-19
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
 © 2008 W.H. Freeman and Company

les RAFTS









Biochimie Membranaire

Introduction - Rôles et importance des membranes biologiques

1- Lipides et protéines membranaires / dynamique membranaire



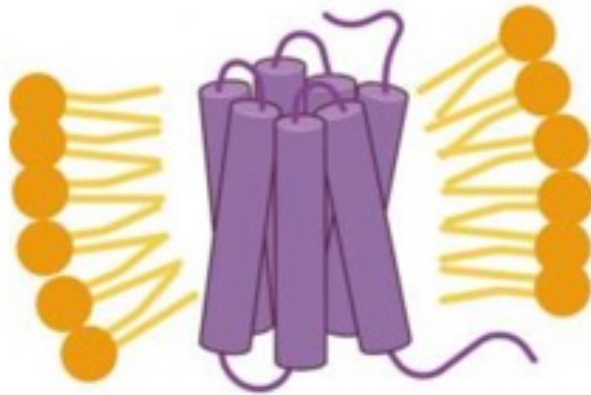
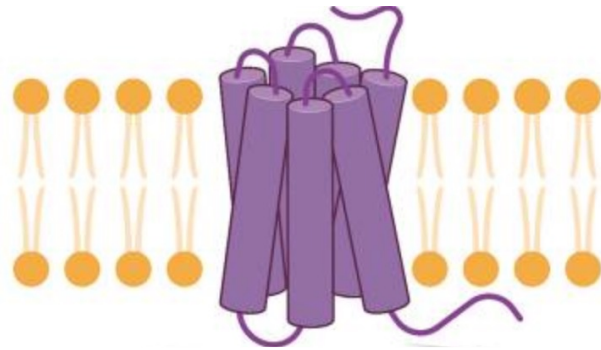
2- Etude expérimentale des protéines membranaires

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

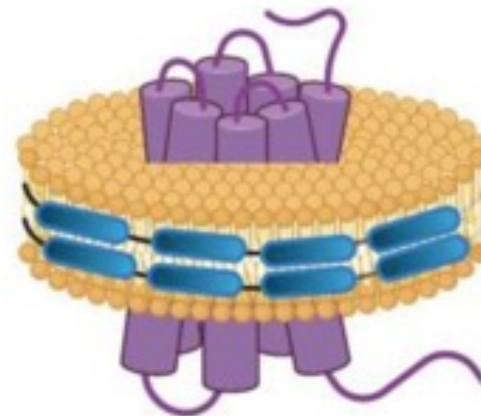
Comment étudier la structure des protéines membranaires

- Les protéines périphériques
- Les protéines « ancrées »
- Les protéines intégrales (transmembranaires)

Solubilisation des protéines transmembranaires



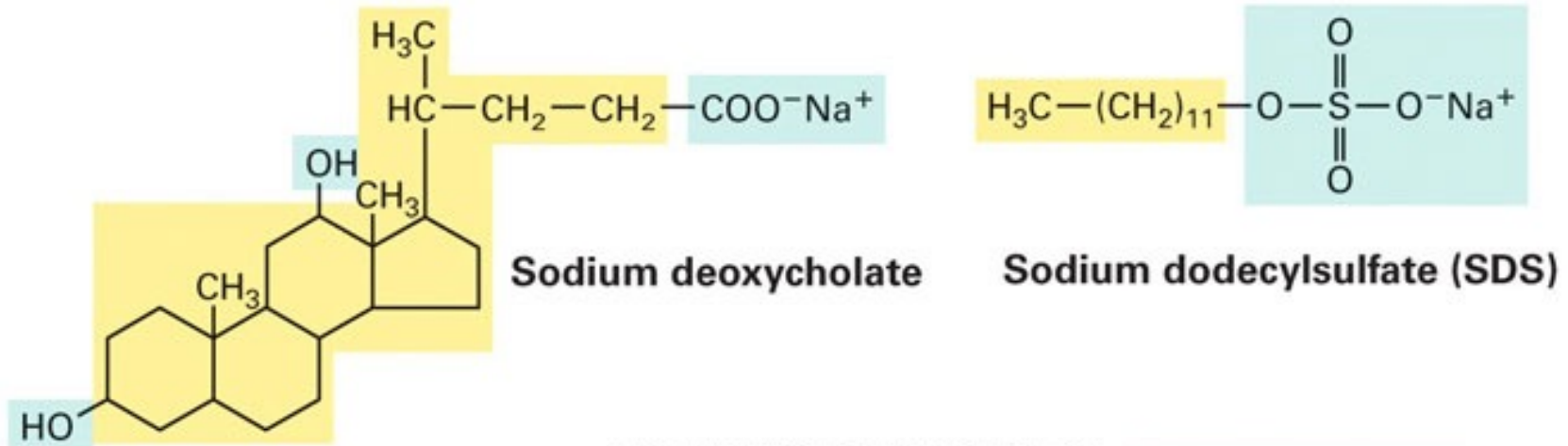
Détergents



polymères amphipathiques

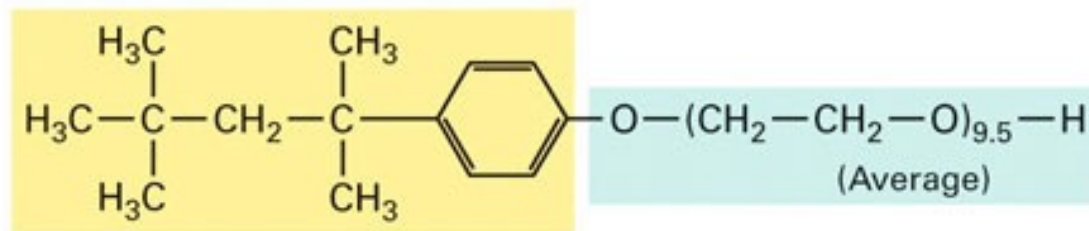
Les détergents sont aussi des molécules amphiphiles

- Détergents ioniques (dénaturants)

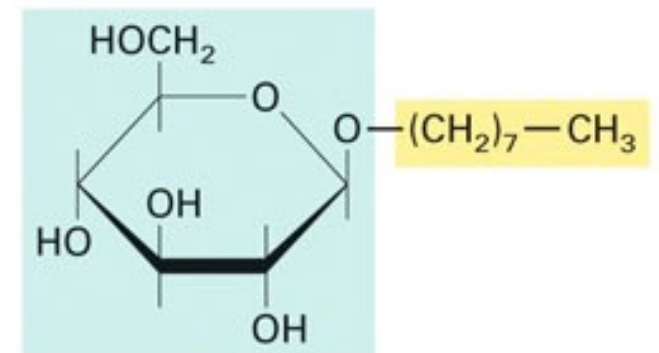


Les détergents sont aussi des molécules amphiphiles

- Détergents non ioniques (non-dénaturants)

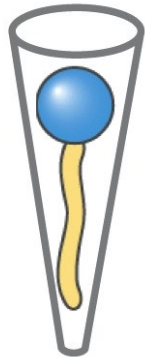


Triton X-100
(polyoxyethylene(9.5)*p-t*-octylphenol)

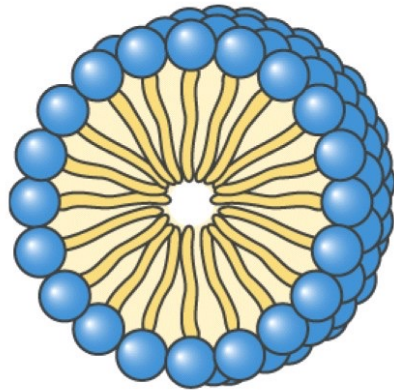


Octylglucoside
(octyl- β -D-glucopyranoside)

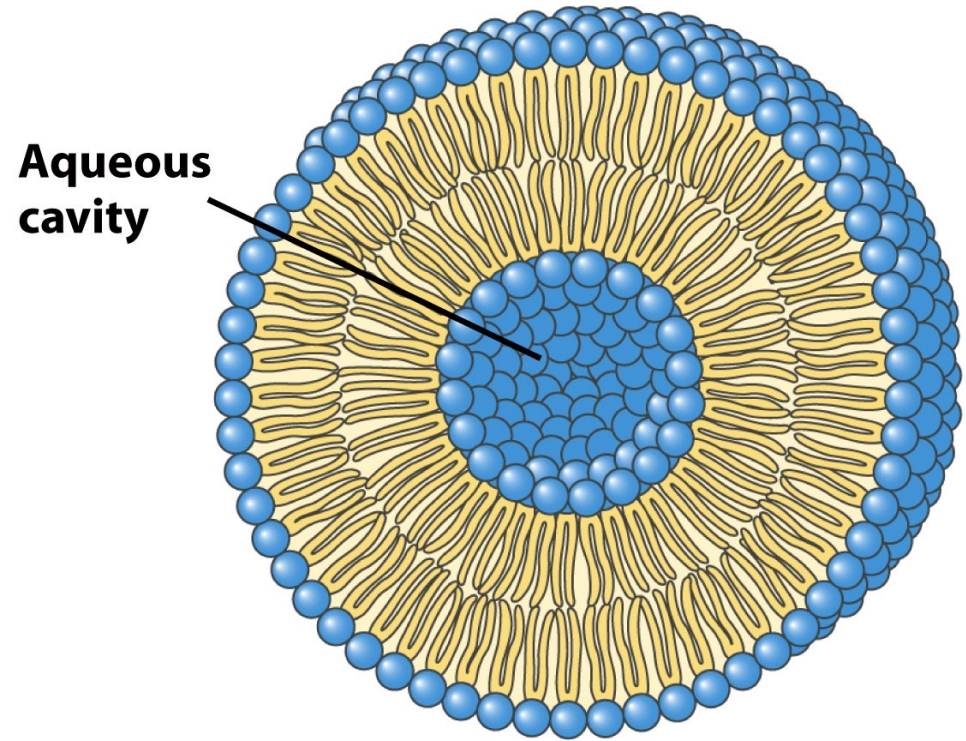
Les détergents forment des micelles en solution aqueuse



Individual units are wedge-shaped (cross section of head greater than that of side chain)



Micelle



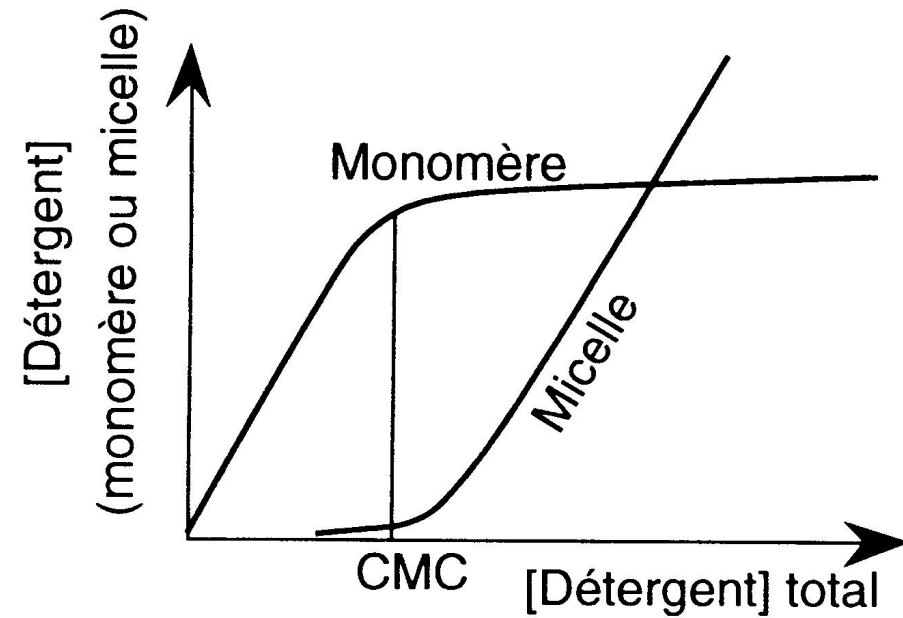
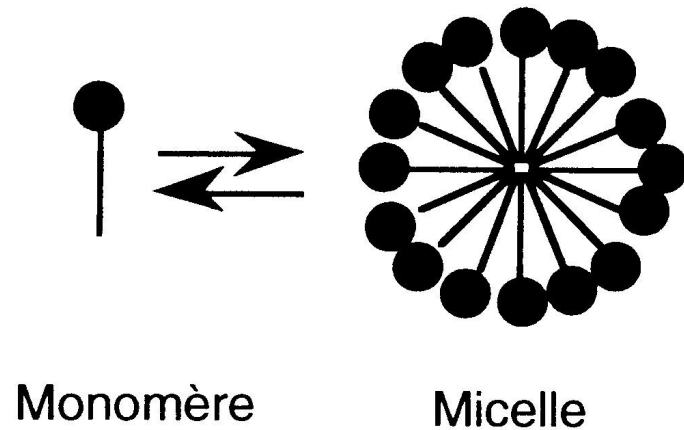
Vesicle

Figure 11-4a
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

Figure 11-4c
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

Micelle \neq Liposome

La notion de Concentration Micellaire Critique



Phospholipases et Lysophospholipides

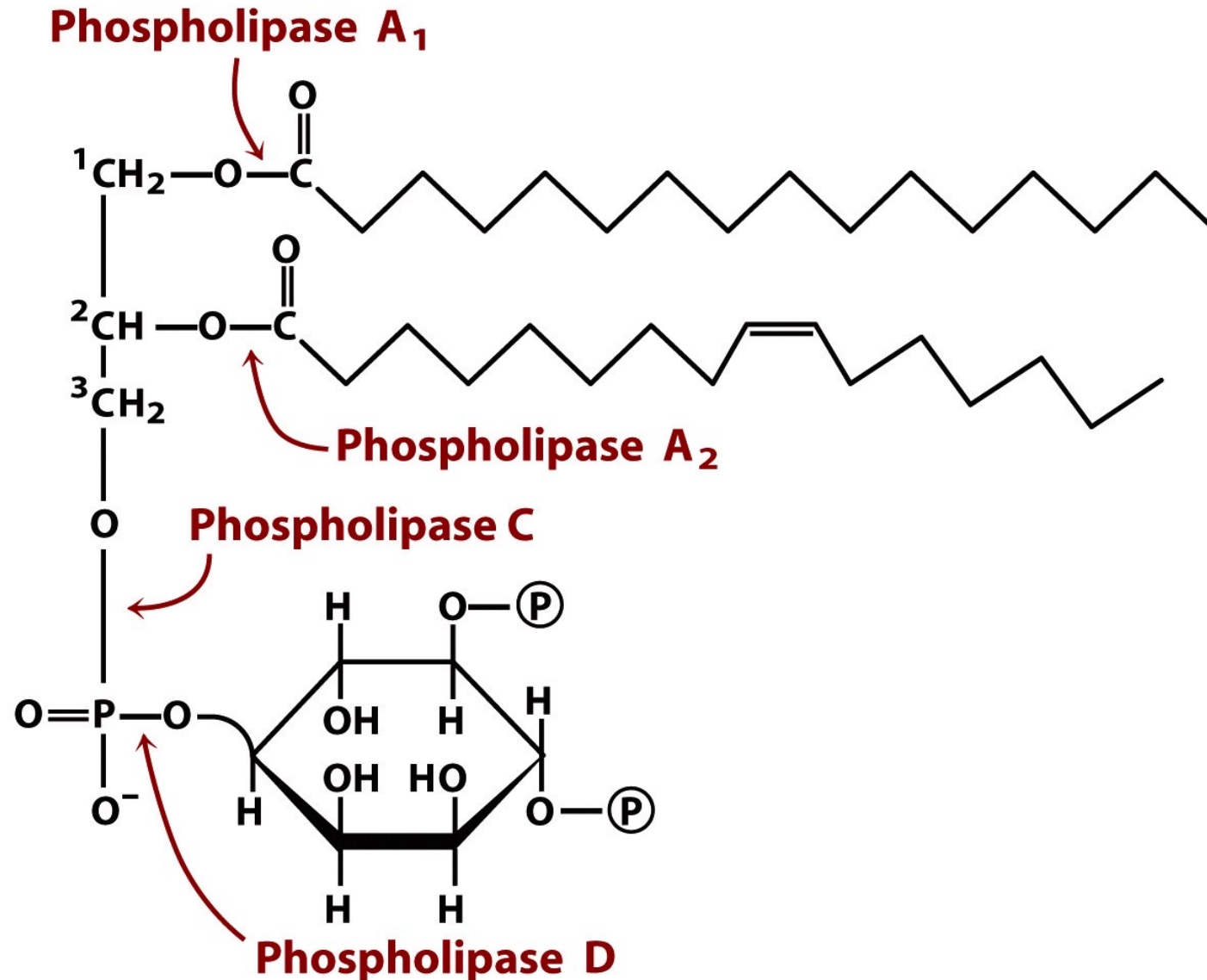
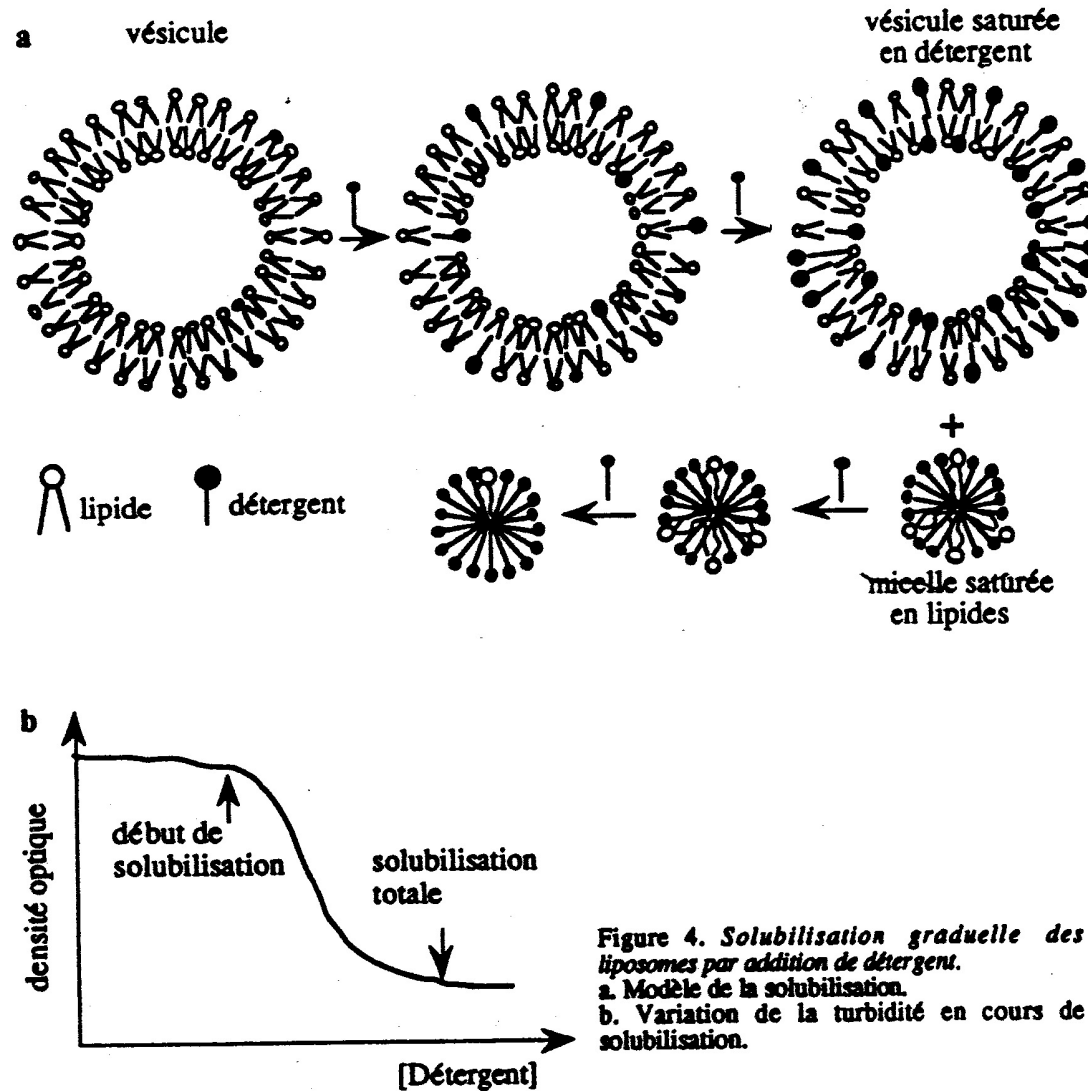
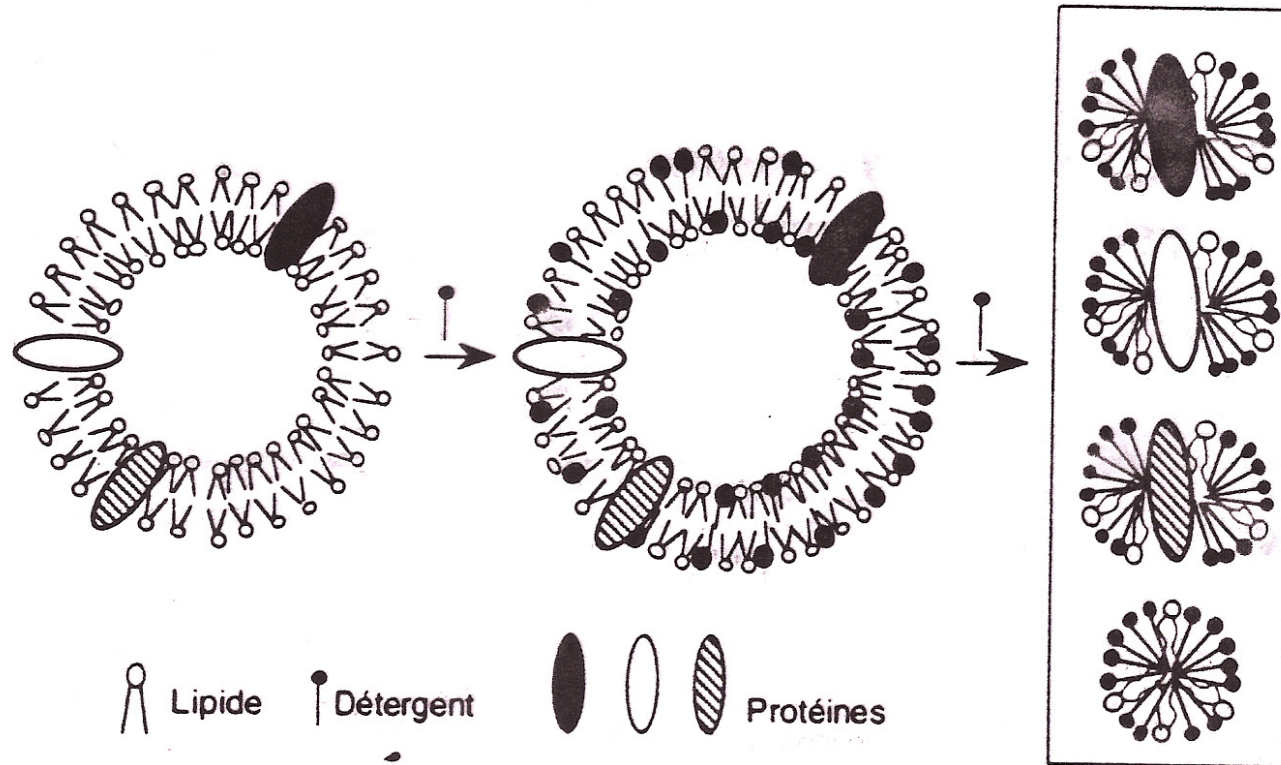


Figure 10-16
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Solubilisation des liposomes par les détergents



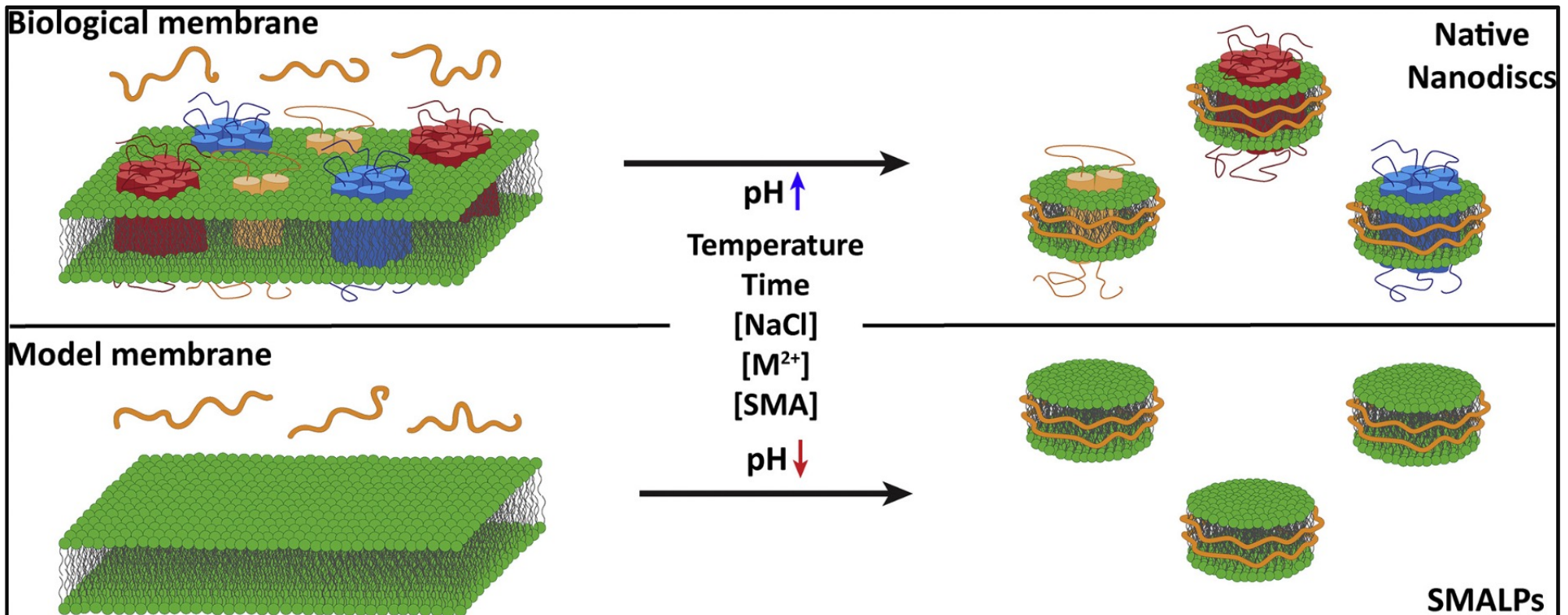
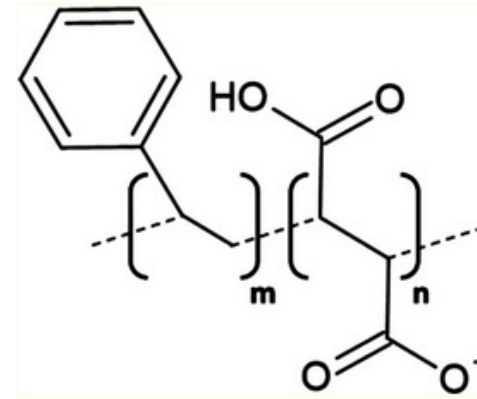
Solubilisation des protéines intégrales par les détergents



Micelles mixtes: Détergents/Lipides et Détergent/ Protéines

Autres polymères amphipatiques

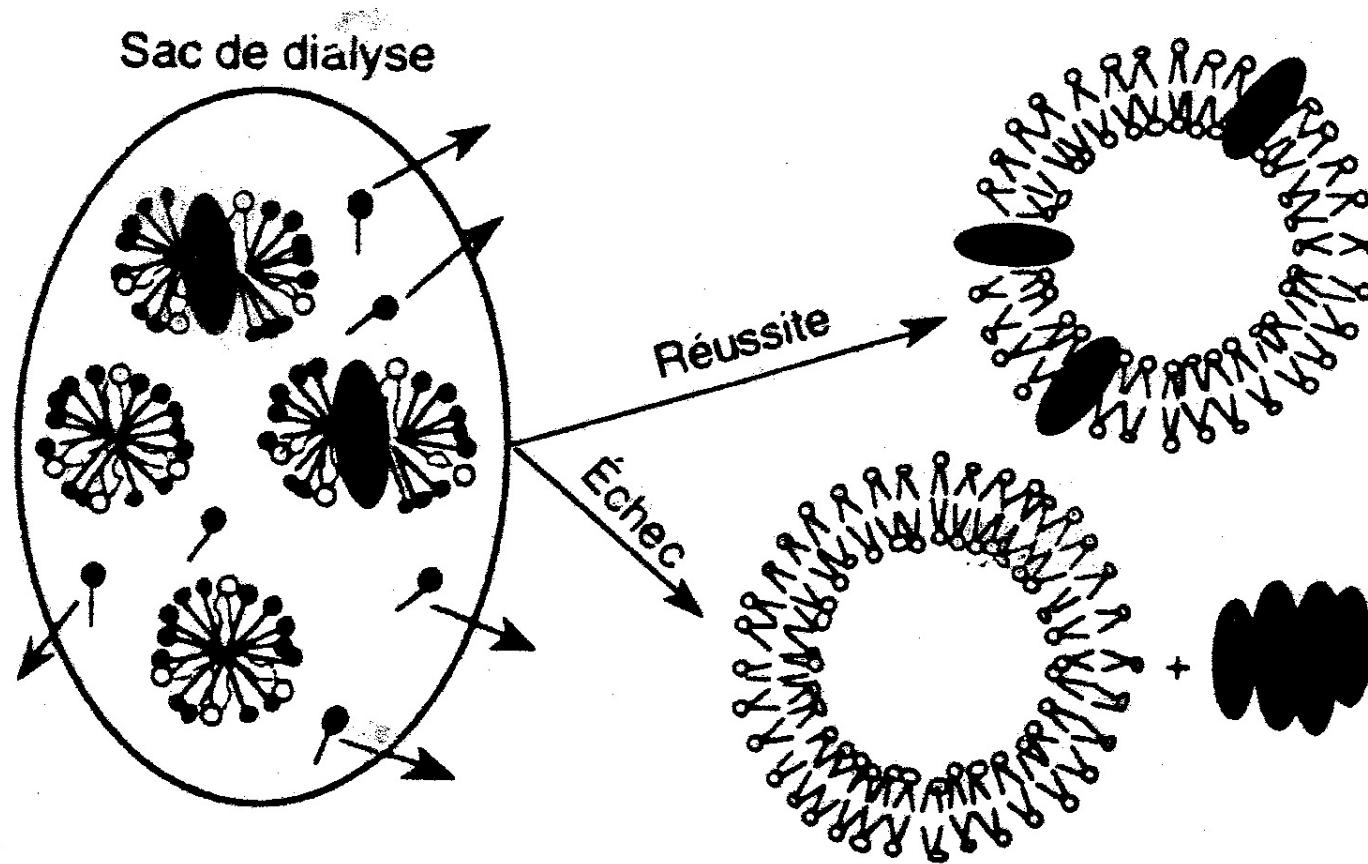
Polymères
Styrène - acide maléique (SMA)



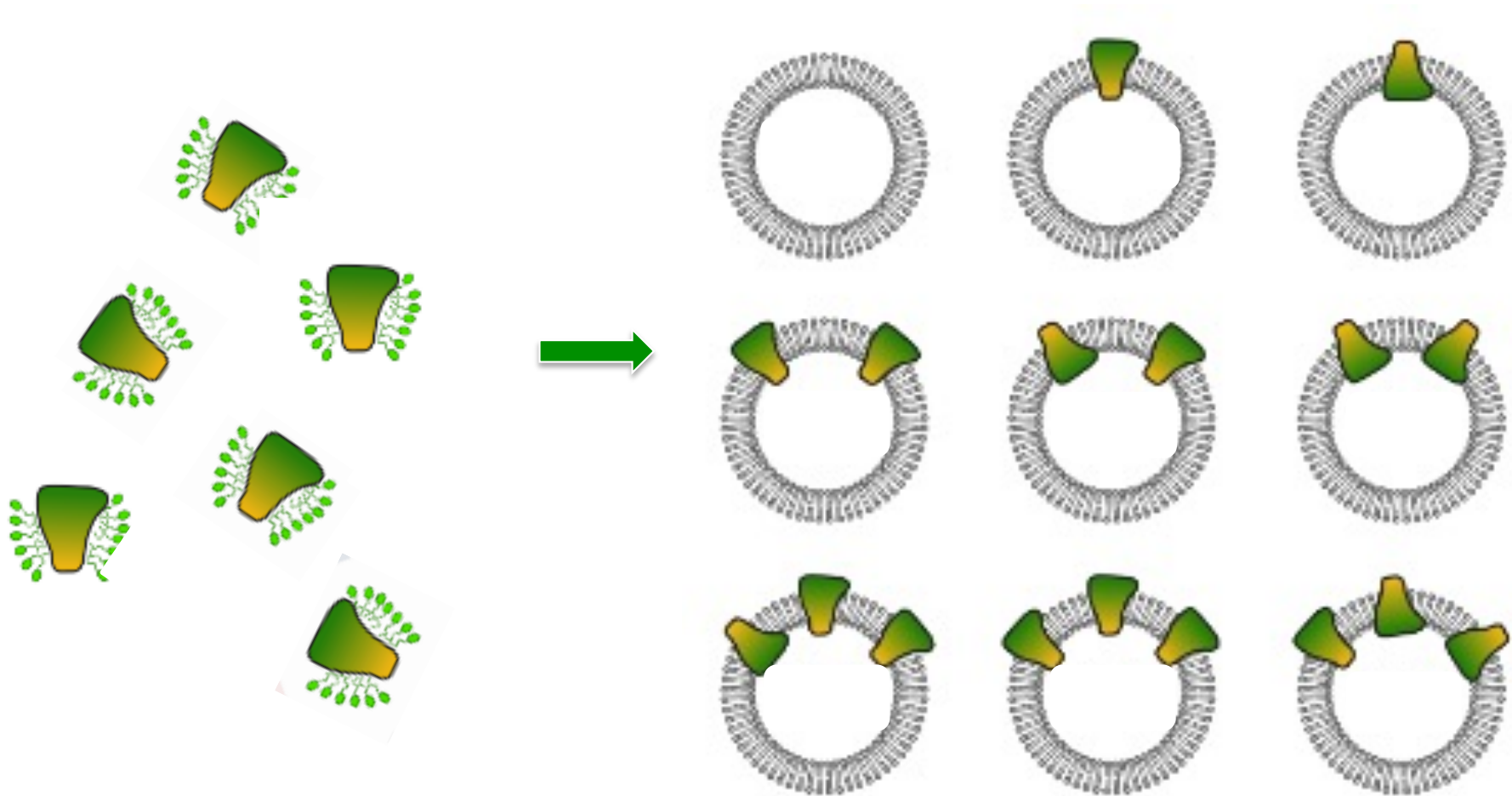
Reconstitution des protéines membranaires dans des liposomes (protéoliposomes)

- Par dialyse du détergent
- Par élimination du détergent sur des « biobeads »

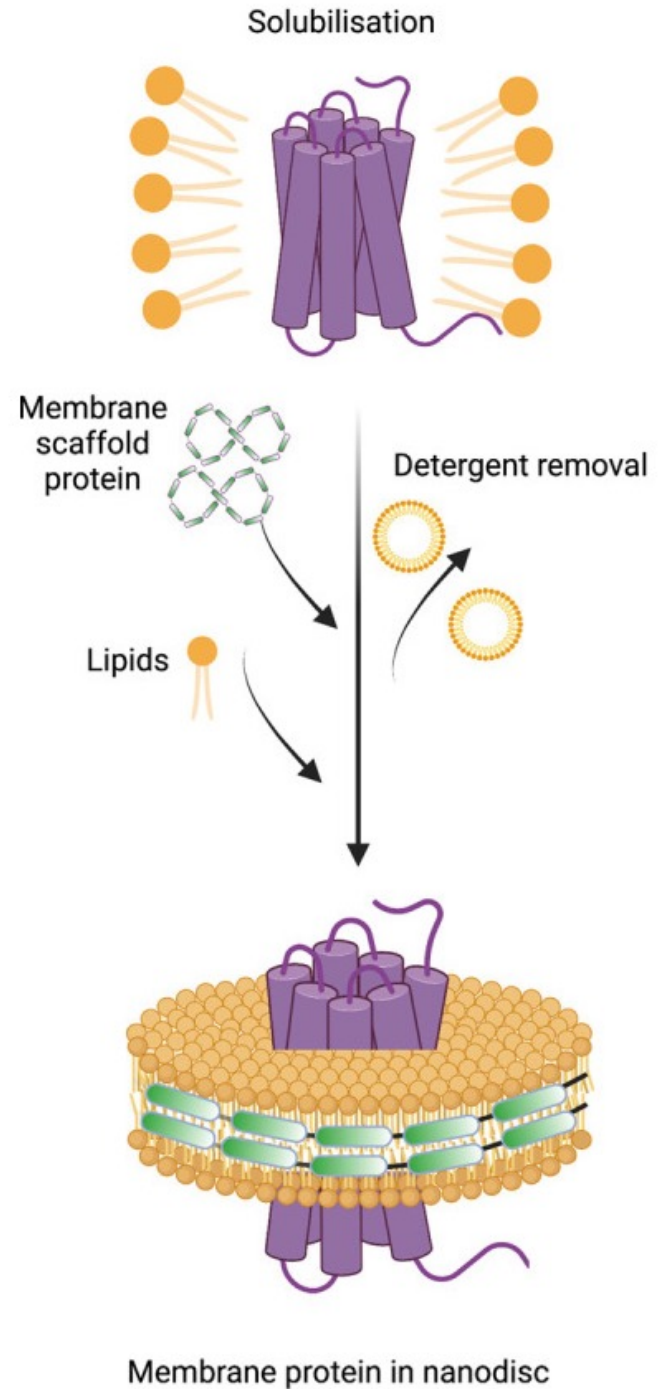
Reconstitution des protéines membranaires par dialyse



Orientation des protéines reconstituées: aléatoire ou contrainte par facteurs stériques



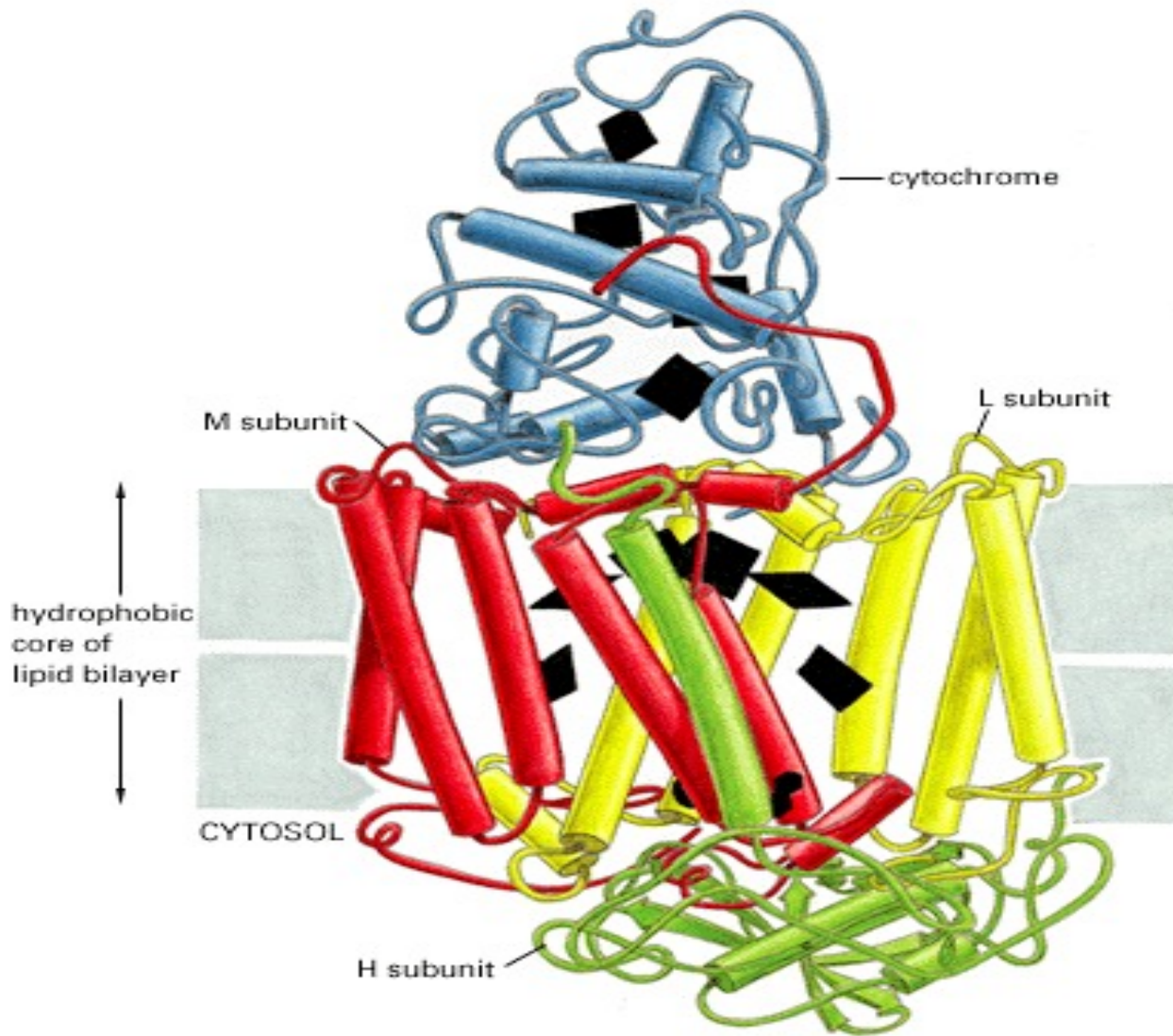
Reconstitution en nanodiscs



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

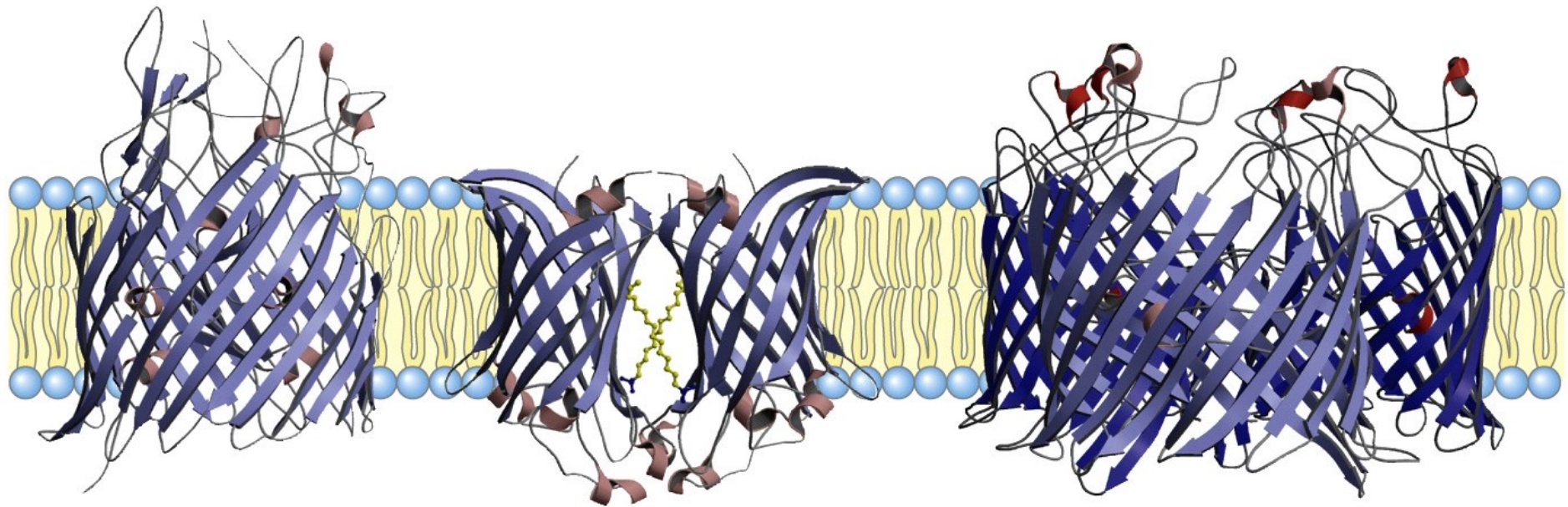
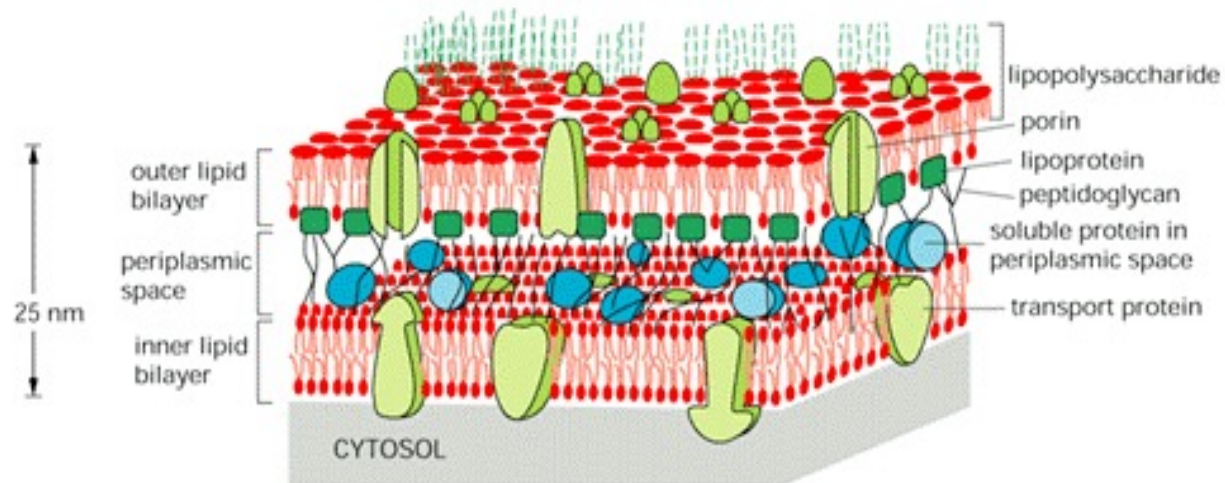


Pas de structures désordonnées traversant la membrane

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
- Ces régions riches en aa hydrophobes devraient être constituées de 20 à 30 résidus environ (épaisseur de la membrane)

La répartition de ces acides aminés hydrophobes ne devrait donc pas être être similaire à celle qui prévaut dans les protéines solubles.

Les acides aminés hydrophobes devraient être regroupés dans certaines régions de la chaîne polypeptidique

Comment identifier les régions
contenant majoritairement des acides
aminés hydrophobes ?

**Quantifier le caractère hydrophobe
des acides aminés**

Tracer le profil d'hydrophobicité

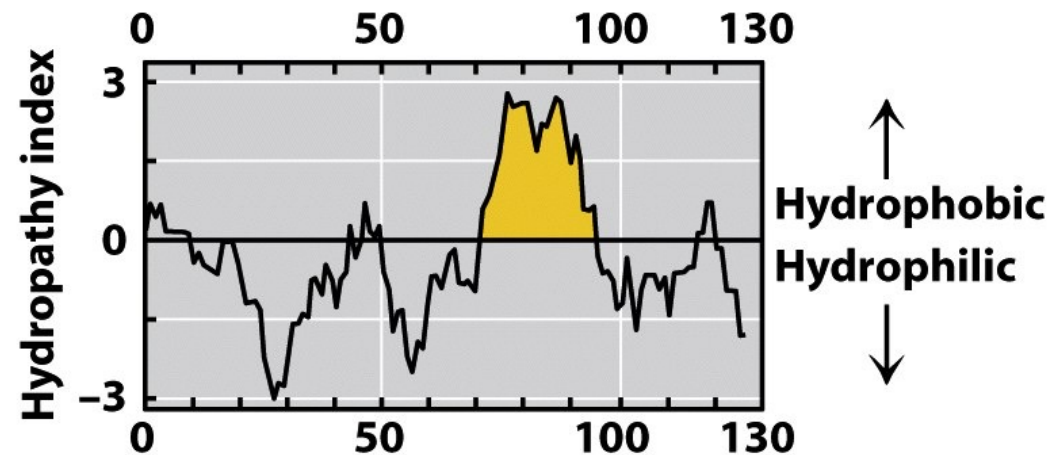
Indice d'hydrophobicité, échelle de Kyte et Doolittle

AMINO ACID

HYDROPHATHIC 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

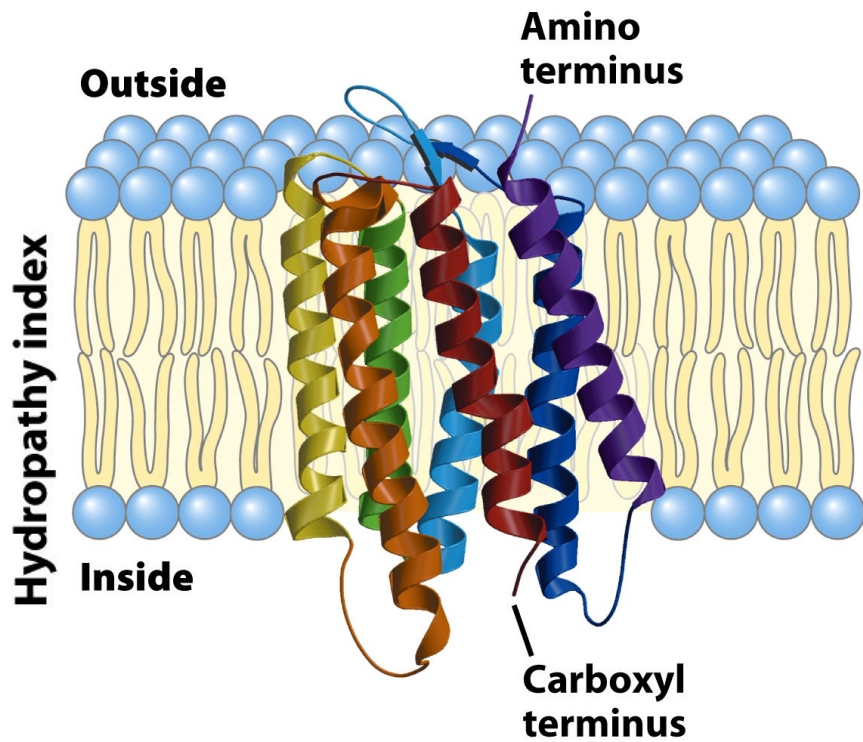
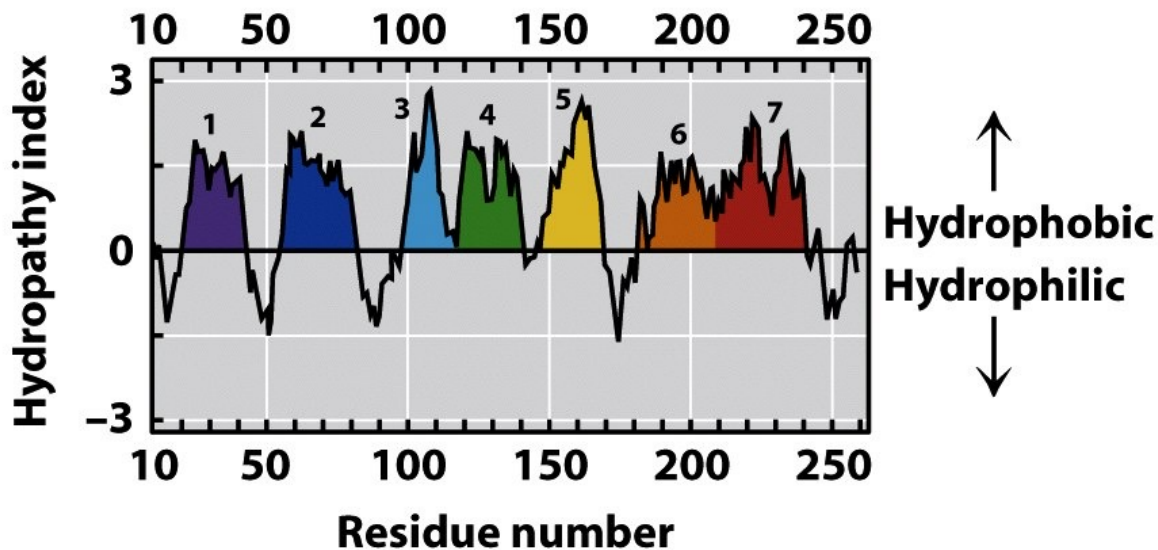


Figure 11-9
 Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
 © 2008 W.H. Freeman and Company

Les prédictions
 sont **souvent** correctes
 mais pas **toujours** !!!!



(b) Bacteriorhodopsin

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

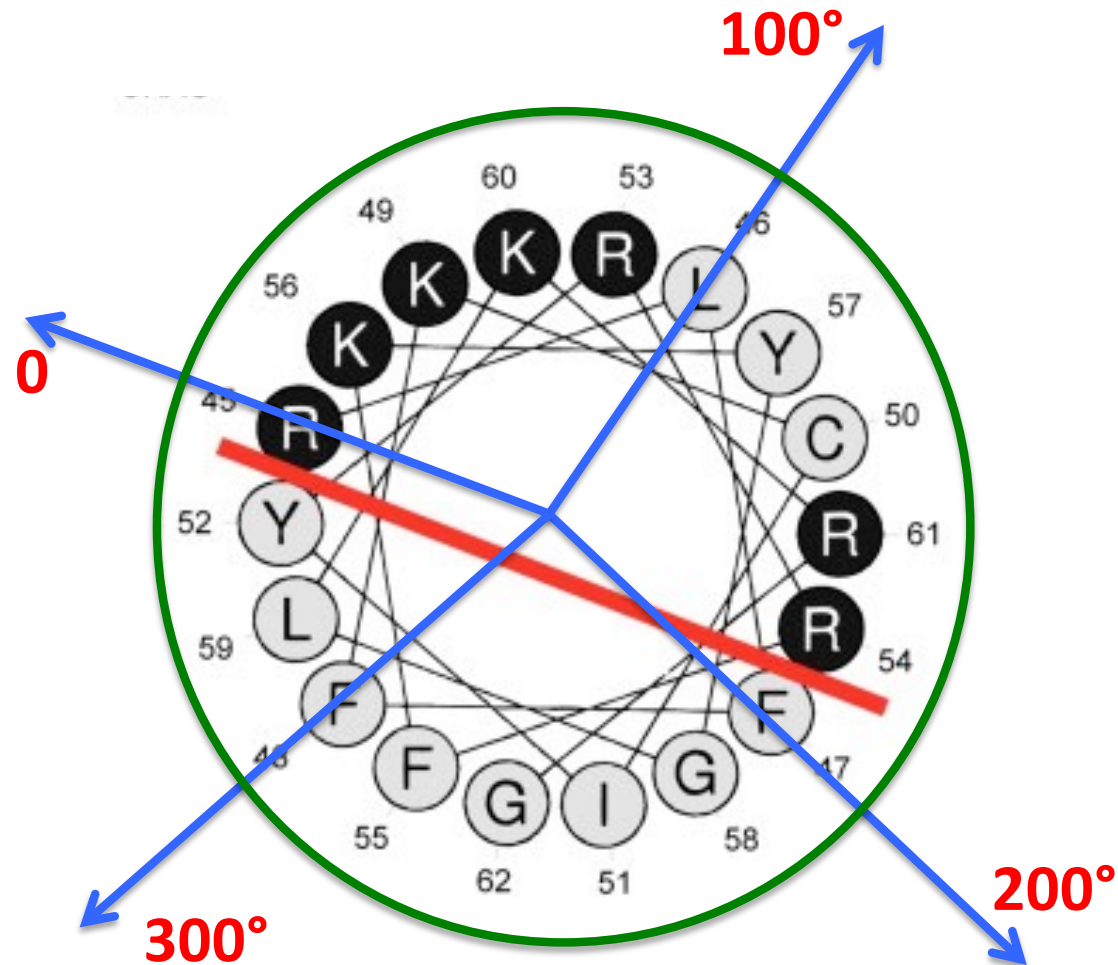
Ce qu'on peut faire et ne pas faire avec un profil d'hydrophobicite

- 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 rapportrices 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'exterieur 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

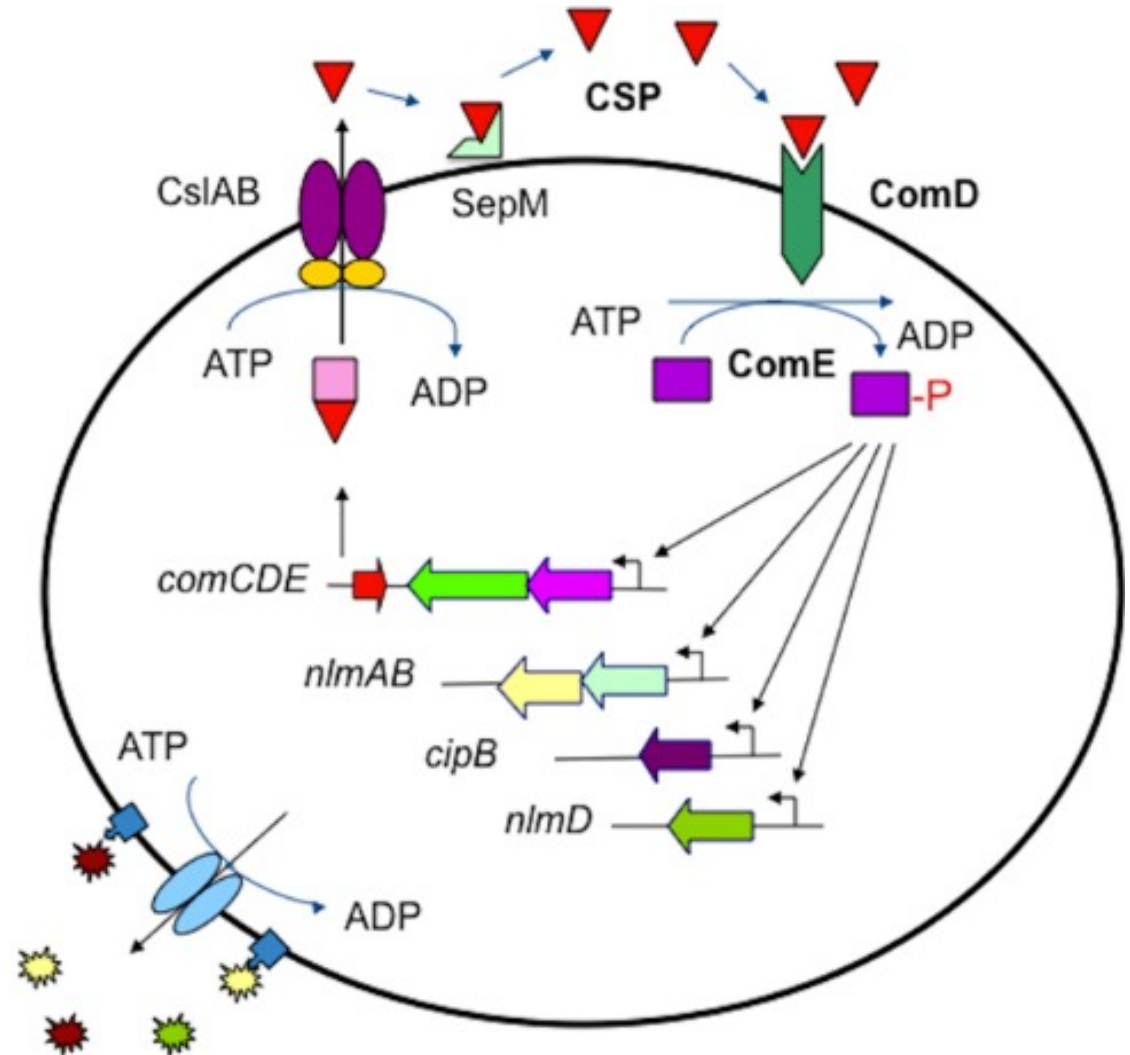
Fusion de gène

SCIENTIFIC REPORTS

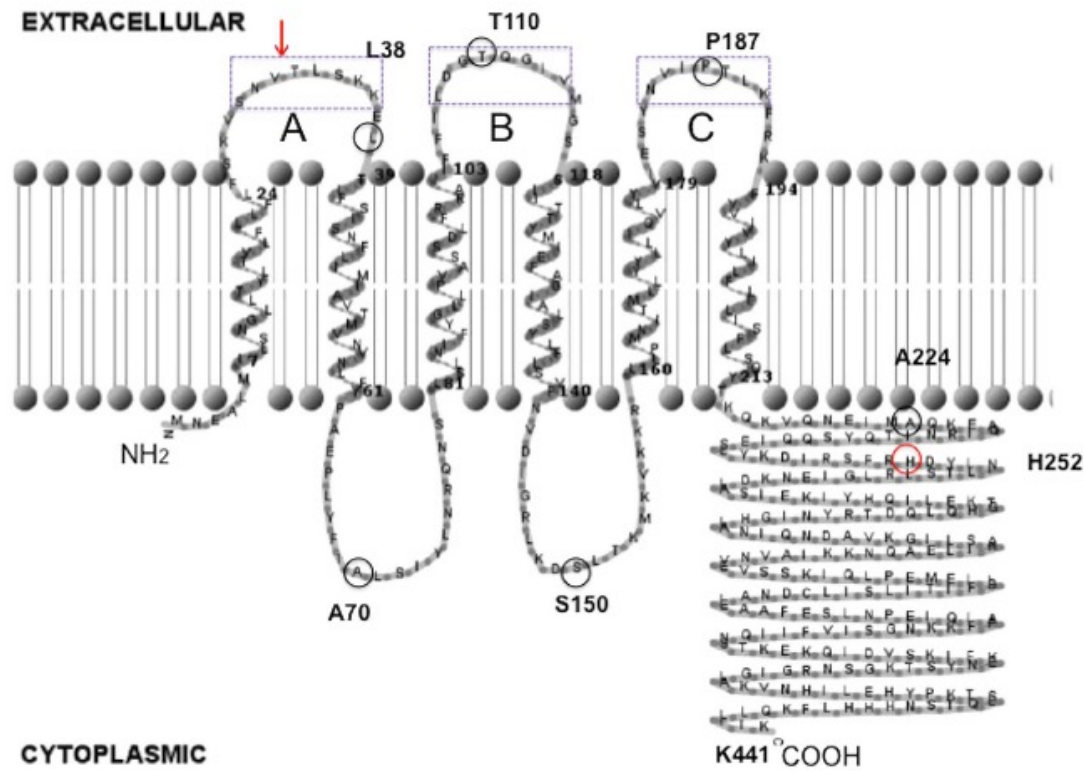
OPEN Membrane Topology and Structural Insights into the Peptide Pheromone Receptor ComD, A Quorum-Sensing Histidine Protein Kinase of *Streptococcus mutans*

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

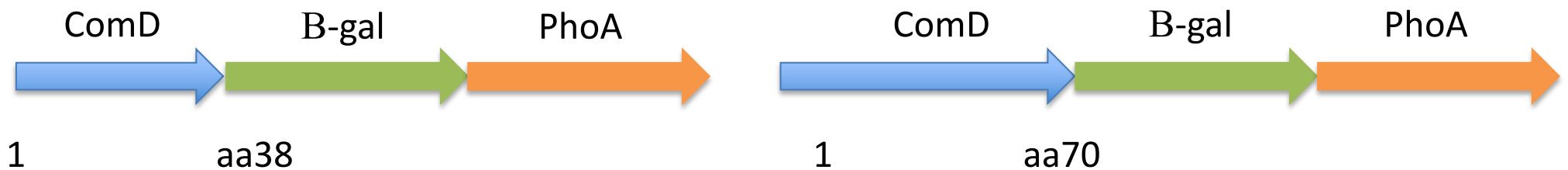
Gaofeng Dong^{1*}, Xiao-Lin Tian^{1*}, Kayla Cyr¹, Tianlei Liu², William Lin², Geoffrey Tziolas² & Yung-Hua Li^{1,2}

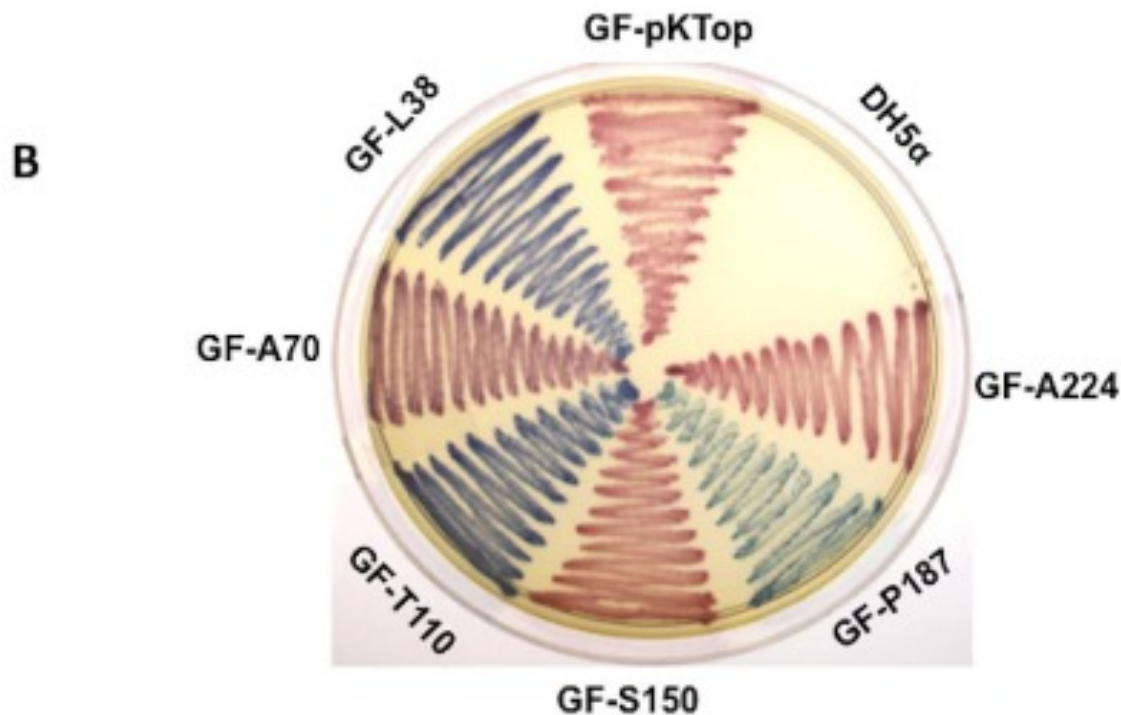
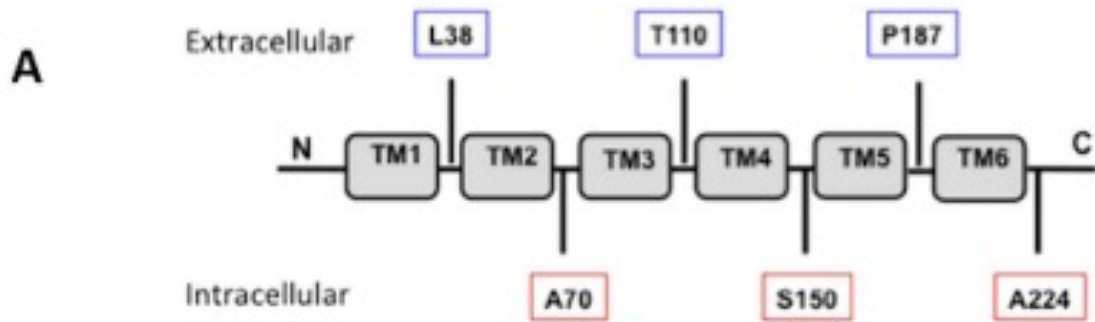


Modèle topologique de ComD (profil d'hydrophobicité)



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 boîte de pétri