

Etude des interactions entre protéines

Rémi CROUZET

Institut Villebon – *Georges Charpak*
Université Paris Sud

Préambule

Cet exposé a pour but de présenter des méthodes permettant de reconnaître et d'étudier les interactions pouvant se faire entre différentes protéines.

Sommaire :

- Double Hybride
- Immunoprécipitation
- Co-Immunoprécipitation
- BiFC (Bimoléculaire Fluorescence complémentation)
- FRET

Double Hybride



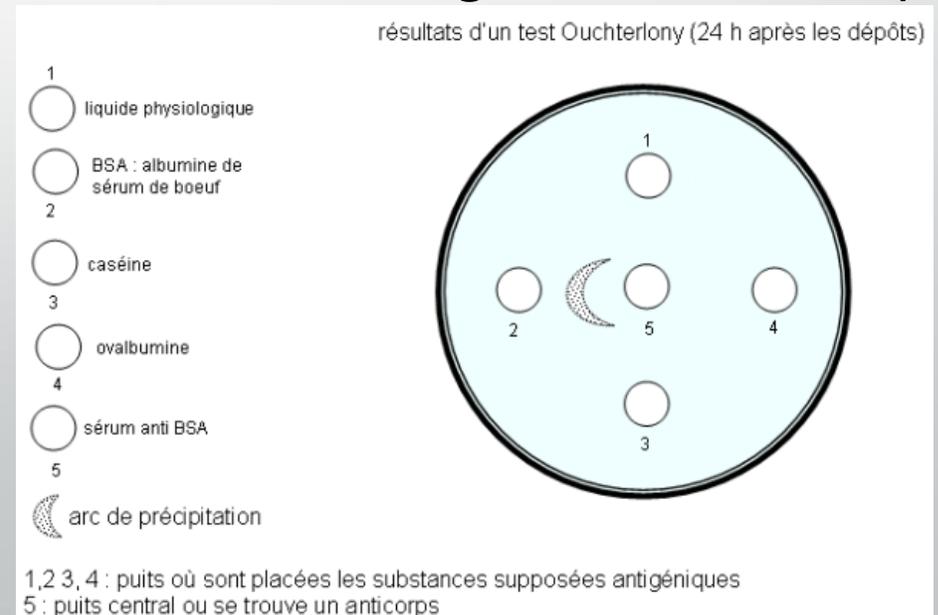
Double Hybride

- Permet de mettre en évidence une interaction physique entre deux protéines
 - Permet de cribler une banque de gènes
- Très simple de voir si il y'a interactions entre les deux types de protéines
 - Milieu Bleu (X-Glu) : Interaction
 - Milieu blanc : pas d'interactions
- Analyse qualitative et quantitative possible (dépend du gène rapporteur utilisé)
- Problème majeur : mesure peuvent être faussées si présence de faux positifs (protéines de la même famille) et faux négatifs (besoin d'une 3^{ème} interaction)

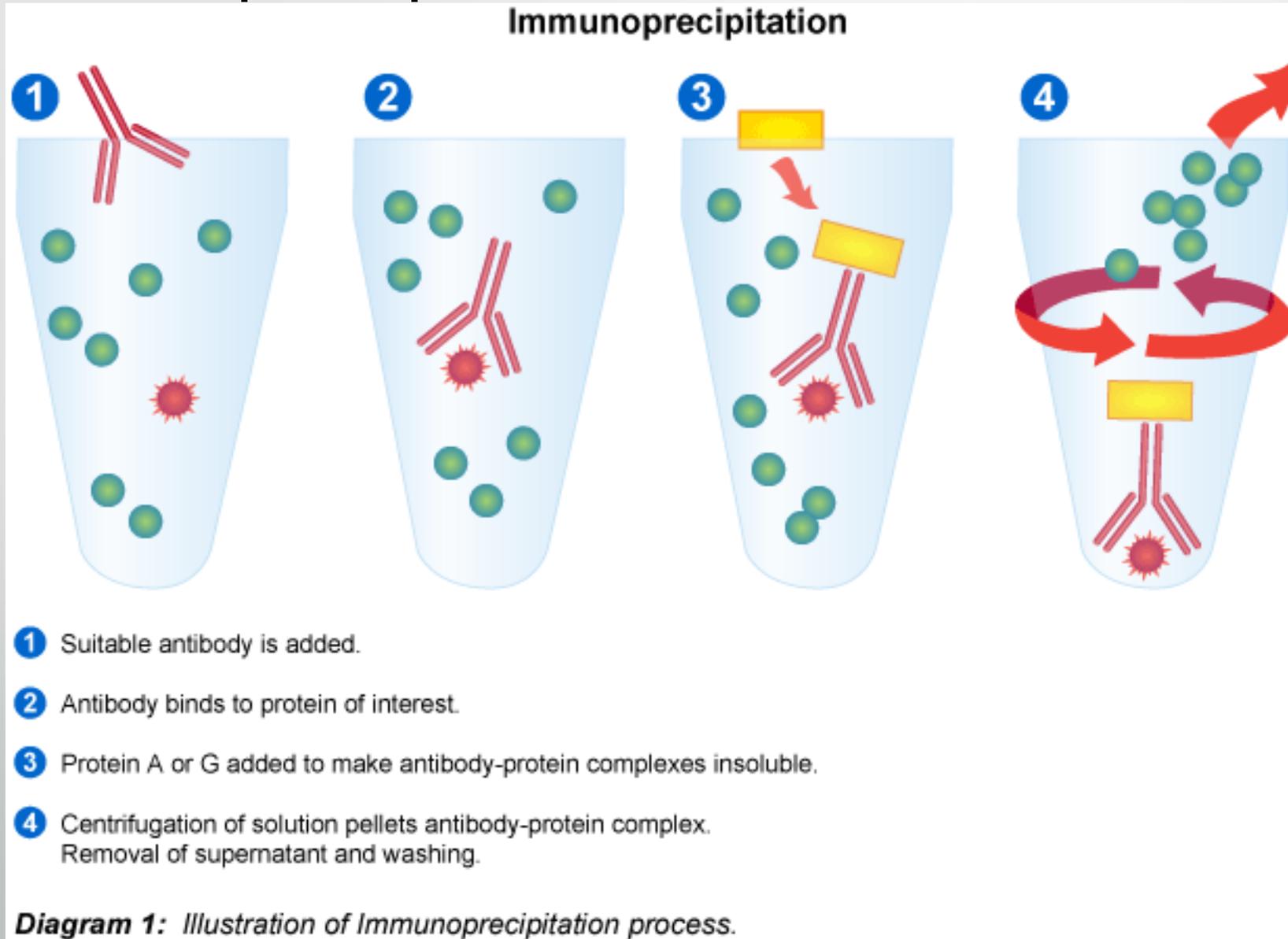
Immunoprécipitation

- Technique qui permet la précipitation d'un antigène avec un anticorps dirigé à cet antigène.
 - Utilisation d'un AC II ou I en fonction des conditions de concentrations d'AG.
- Méthode préliminaire souvent utilisée : diffusion en gel d'Ouchterlony

Rémi CROUZET - Institut Villebon *Georges Charpak*



Immunoprécipitation



Co-Immuno-précipitation

- Technique qui consiste à isoler un complexe protéique en utilisant un anticorps dirigé contre un des membres du complexe. La co-IP fait forcément interagir
 - plus d'une protéine.
- Importance de cette méthode :
 - Formation d'une protéine multimétrique
 - Localisation intracellulaire
 - Régulation de la fonction protéique
- Plusieurs manières de révéler :
 - Centrifugation
 - Aspiration surnageant

Co-Immunooprécipitation

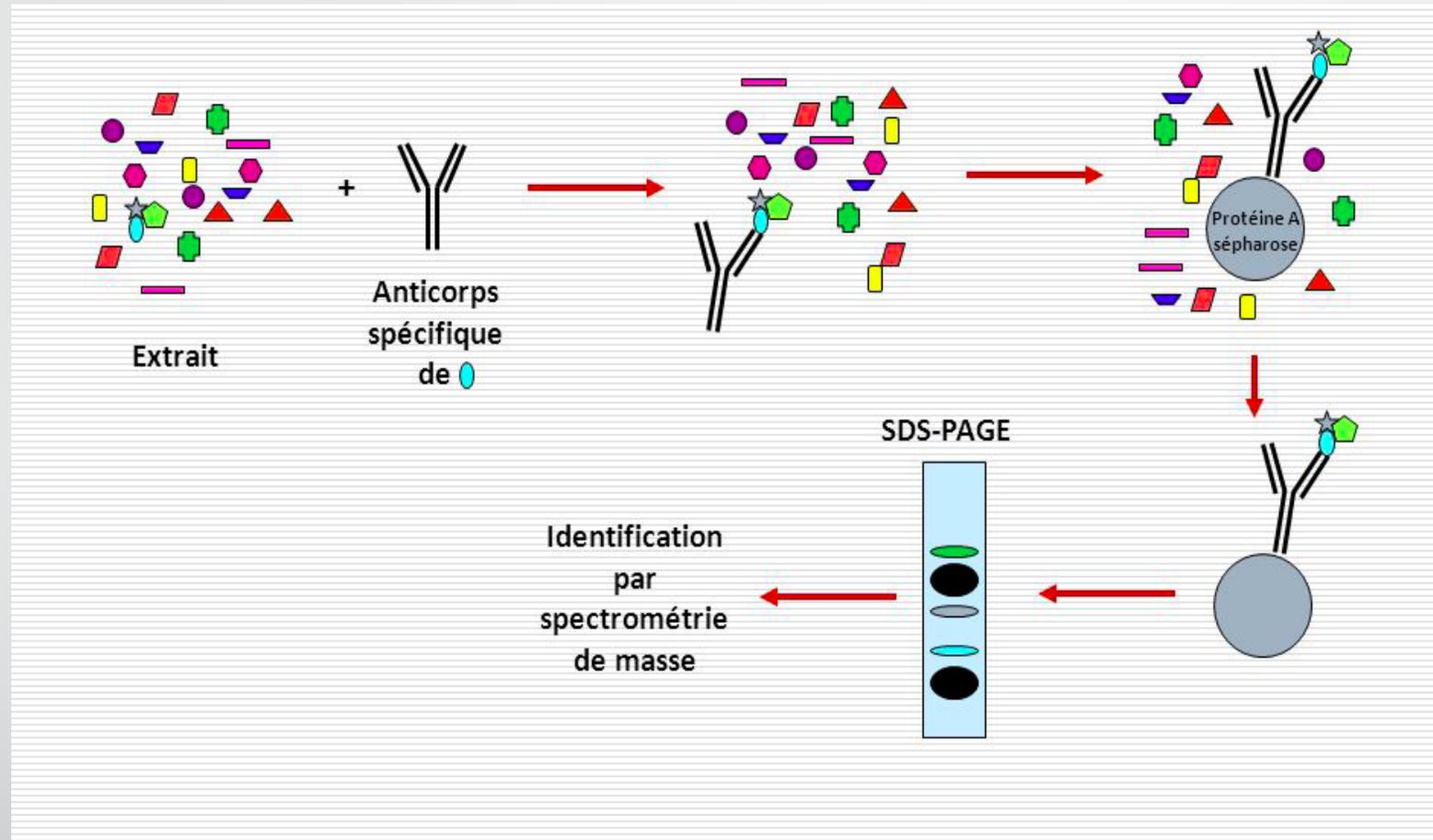


Fig 3: Schéma explicatif de la technique de co-immunoprécipitation

BiFC

- Voir exposé de Lucie Thème 6 😊

BiFC

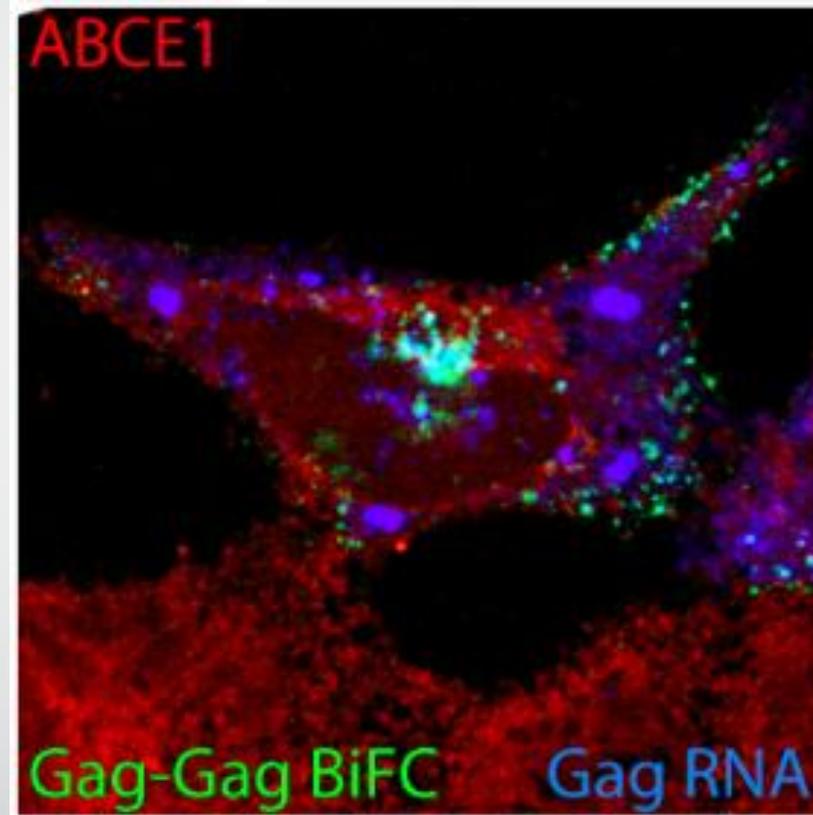
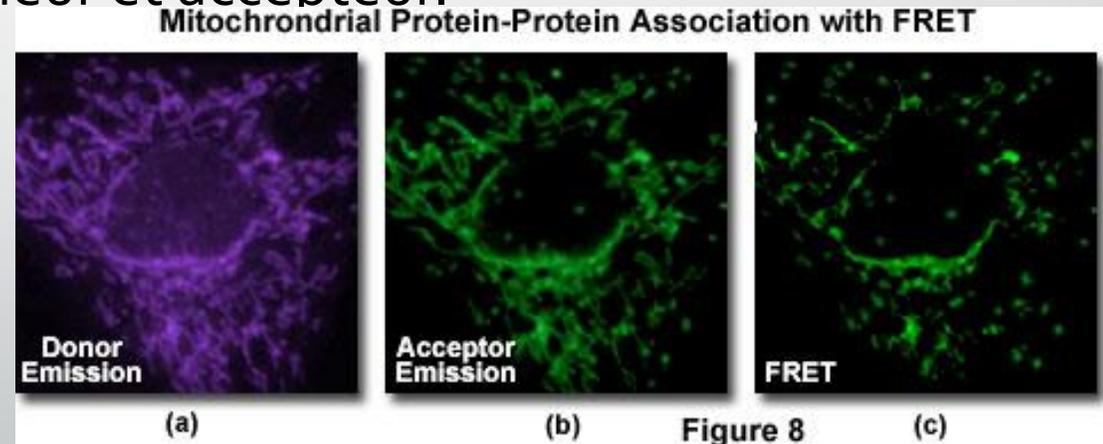


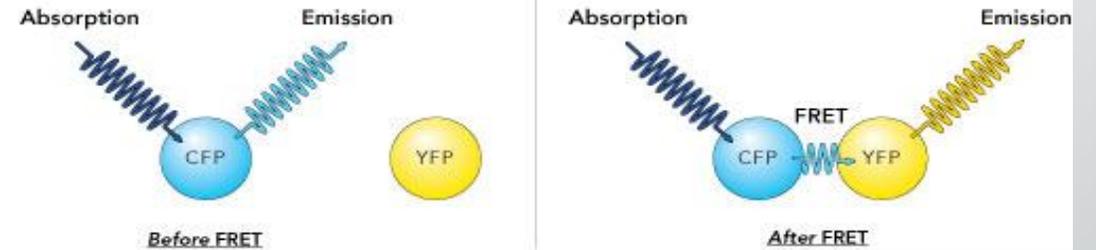
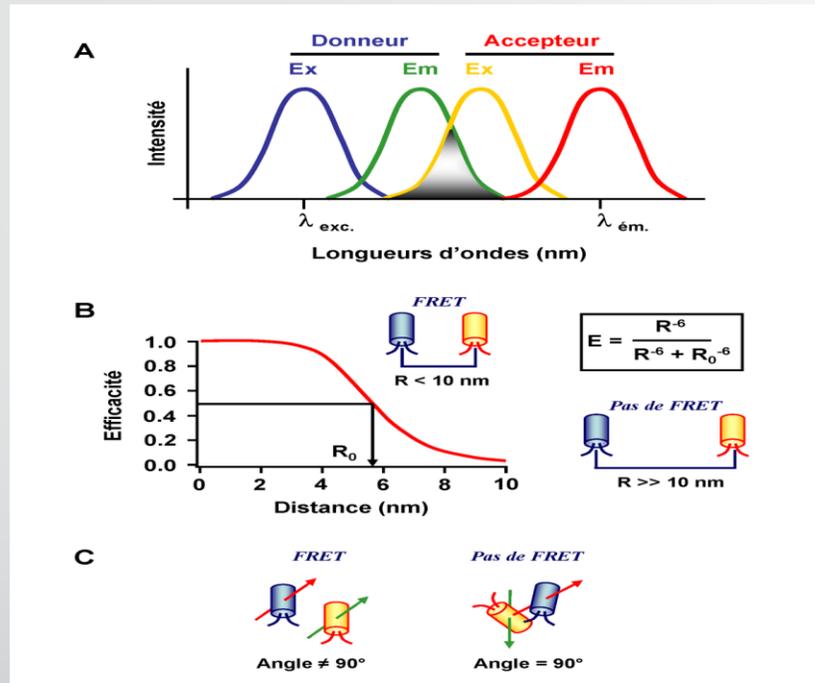
Fig.5 : Localisation VIH grâce à une BiFC

FRET

- « *Fluorescence Resonance Energy Transfer* ». Phénomène de physique quantique qui se produit entre un donneur fluorescent et un accpeteur fluorescent.
- Excitation d'un fluorophore donneur → Excitation du fluorophore
- Si présence d'une protéine (fluorophore avec même sensibilité) à proximité du donneur → si chevauchement des spectres d'absorption et d'émission → Transfert d'énergie entre donneur et accepteur.



FRET



CONCLUSION

- **De nombreuses méthodes permettent de déterminer quelles sont les interactions entre protéines MAIS :**
 - La méthode choisie dépend des conditions 'physiologiques' d'étude
 - Dépend du budget
 - Dépend de ce qu'on souhaite observer
- **Il existe des méthodes plus ou moins fiables.**

Etude des interactions entre protéines

Rémi CROUZET

Institut Villebon – *Georges Charpak*
Université Paris Sud