



Lyon 1



Agrégation de molécules biologiques : apports de la mobilité ionique

Fabien Chirot

Laboratoire des Sciences Analytiques
UMR 5180 Université Lyon1 – CNRS
&
LASIM
UMR 5579 Université Lyon1 – CNRS

Collaboration: Francis Canon, Pascale Sarni-Manchado

Laboratoire pour l'œnologie, INRA Montpellier

Contexte

- Agrégation des molécules biologiques:

⇒ parfois indésirable (Alzheimer, ...)

- Mise en évidence et caractérisation:

⇒ En solution = diffusion, SAXS, RMN, mesures de viscosité, etc...

mais on ne connaît pas la **stoechiométrie** des complexes

⇒ En phase gaz = spectro. de masse + spectro. d'action, mobilité ionique, échange H/D

mais on n'est pas dans les **conditions physiologiques**

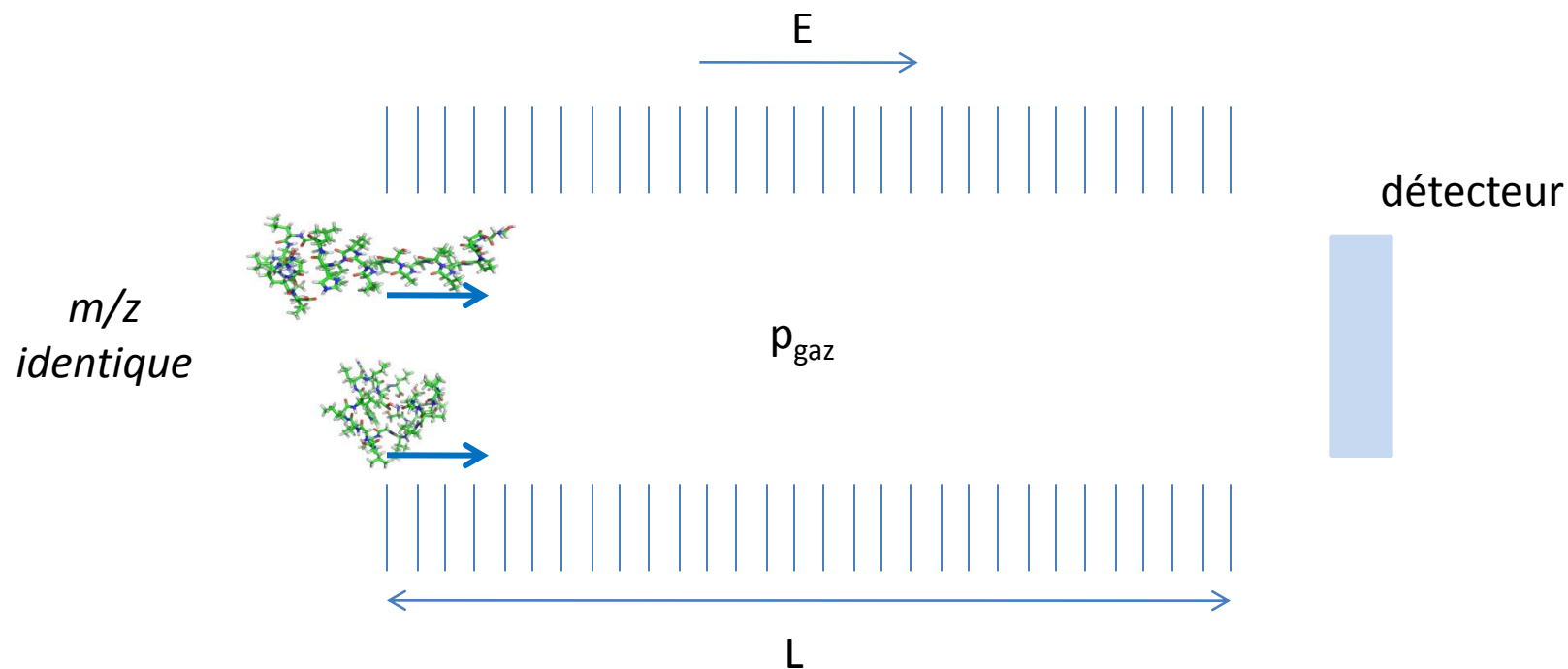
néanmoins on a des techniques d'ionisation qui préservent la conformation

-Dans cet exposé: **mobilité ionique+ spectro. de masse** pour étudier un processus d'agrégation:

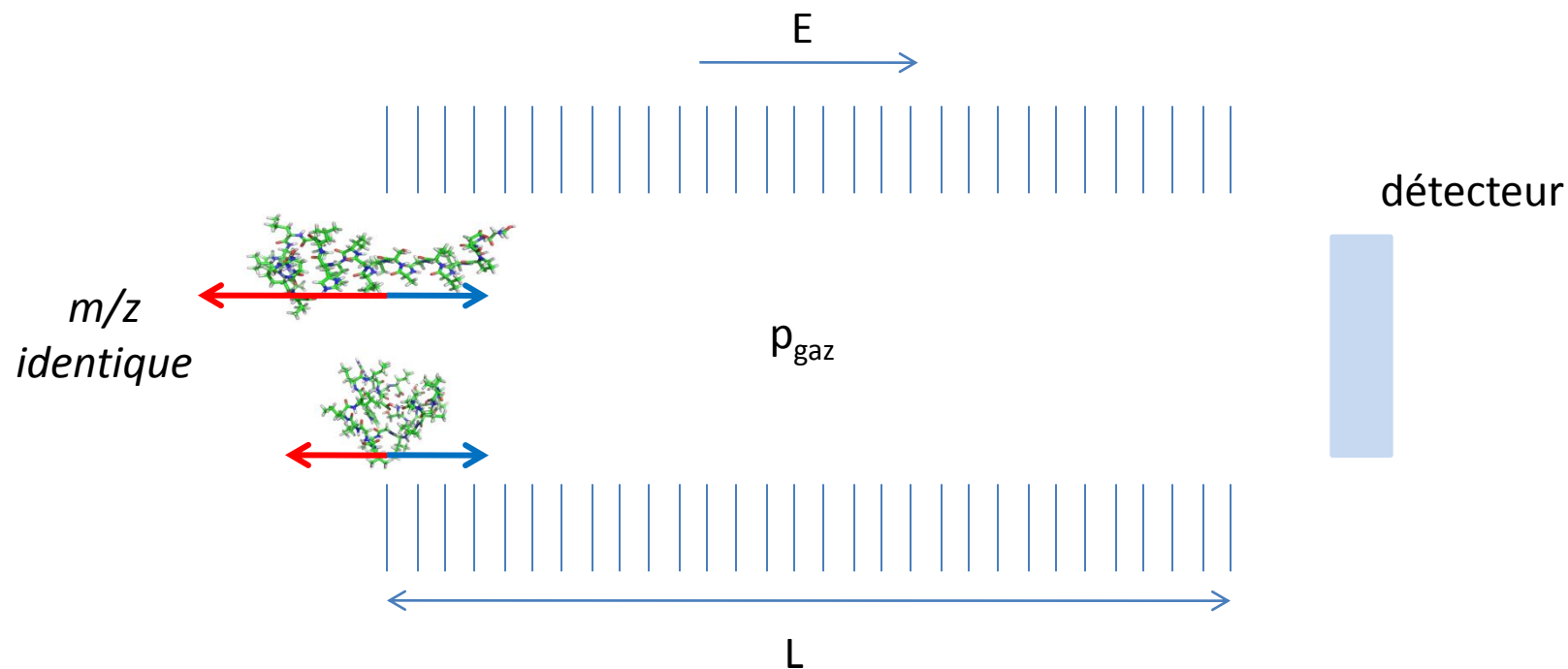
Le **collage de tanins sur une protéine salivaire**

=> formation d'agrégats non covalents

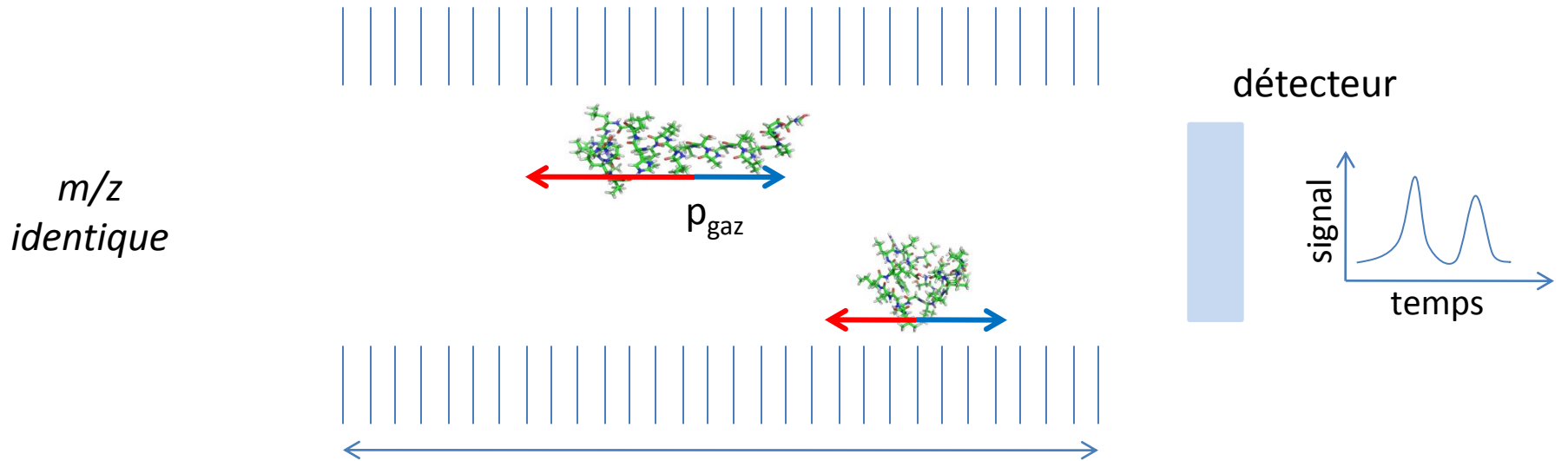
Mobilité ionique: Principe



Mobilité ionique: Principe



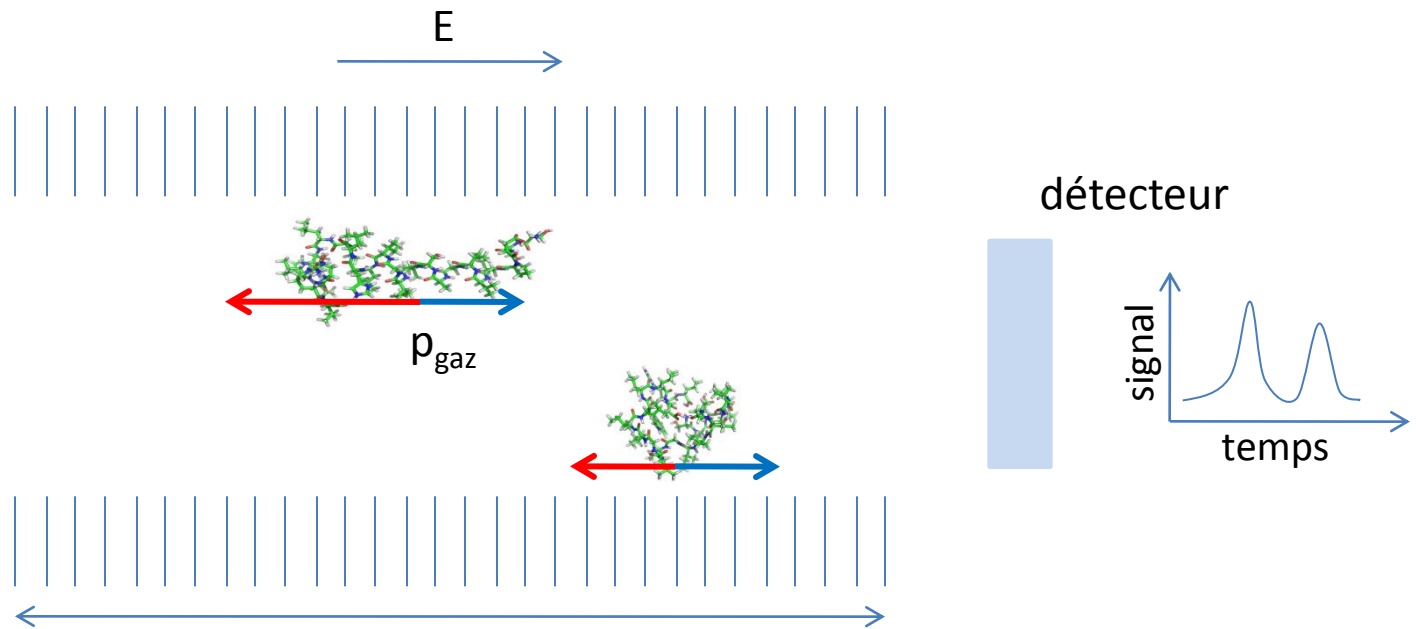
Mobilité ionique: Principe



- Diffusion à vitesse constante \rightarrow séparation d'isomères

$$\vec{v} = K \vec{E} \quad K = \text{Mobilité Ionique}$$

Mobilité ionique: Principe



- Diffusion à **vitesse constante** → **séparation d'isomères**

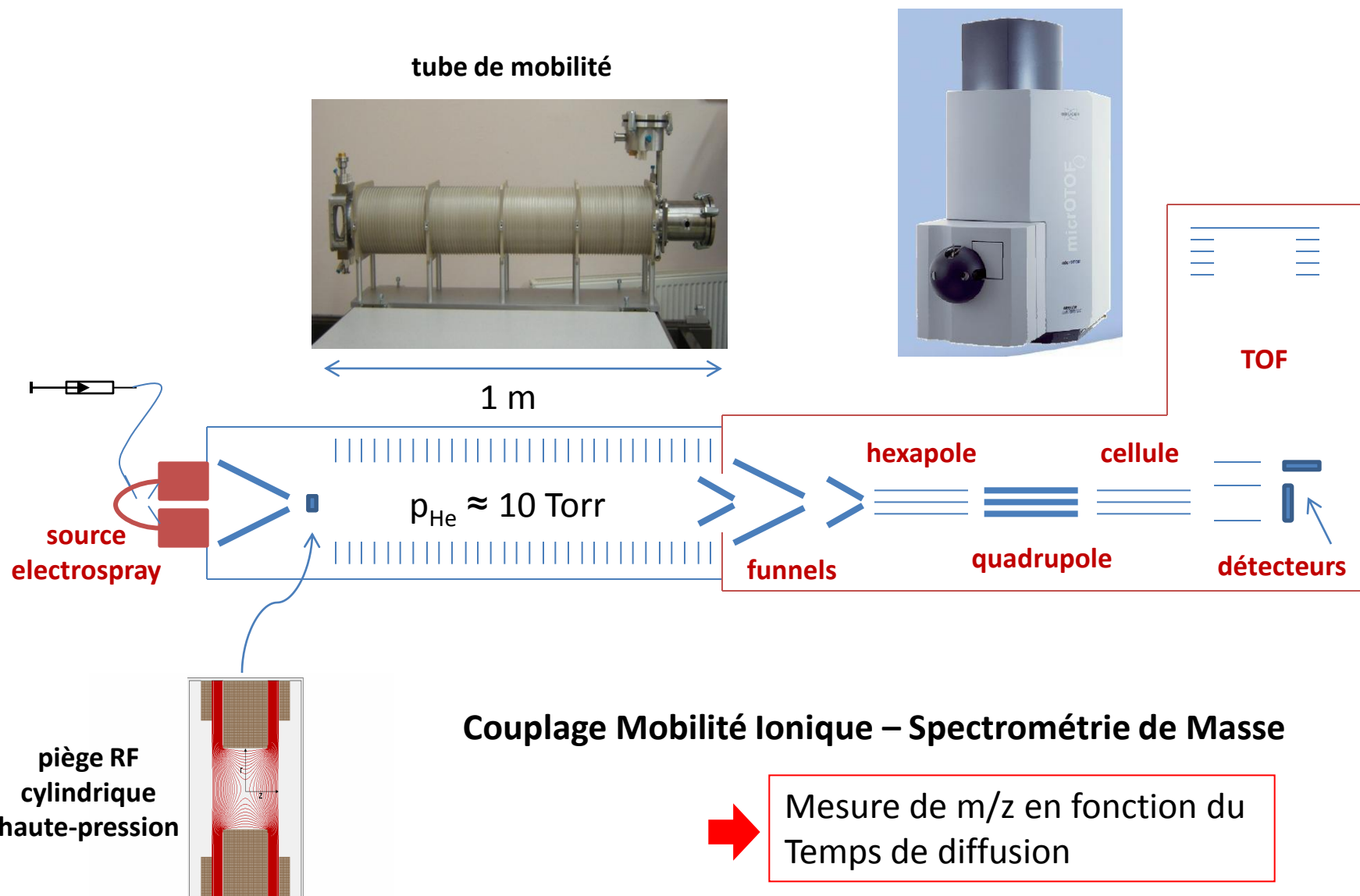
$$\vec{v} = K \vec{E} \quad K = \text{Mobilité Ionique}$$

- Temps de diffusion relié à la **section efficace** de collision ion/gaz

$$t_D = L/v = K^{-1} \frac{L}{E} \propto \Omega_{\text{coll}} p_0 \frac{L}{E}$$

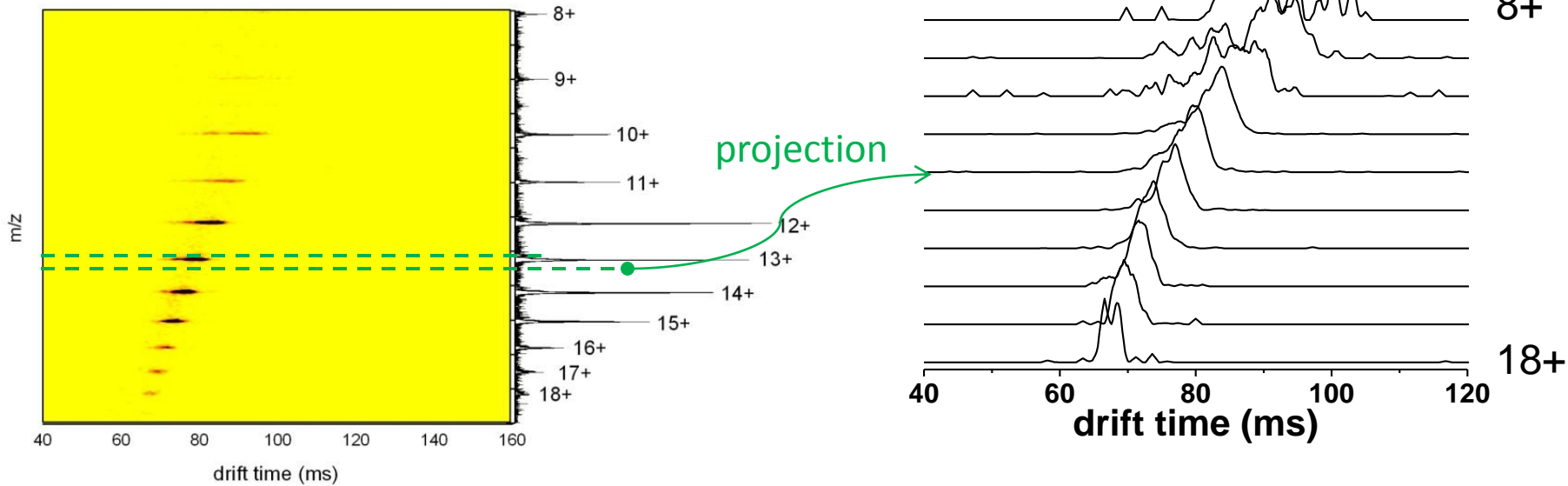
- Comparaison avec des structures d'essai calculées → détermination de la **conformation**

Dispositif expérimental



Traitement des résultats

Carte 2d m/z vs temps de diffusion (exemple d'une protéine: lysozyme)



Contexte: Astringence et Agrégation

- Astringence des vins (et autres aliments)
 - => Présence de polyphénols (tanins)
- interaction tanin/protéines salivaires
 - => agrégation
- = mécanisme de défense contre les tanins indigestes
- Processus d'agrégation?



- protéines salivaires = astructurées (riches en proline)=> étude structurale difficile
- complexes => multiples stoechiométries: en solution mélange de différentes espèces

Études en solution

-RMN

=> interactions entre tanins (**empilement** de cycles aromatiques)

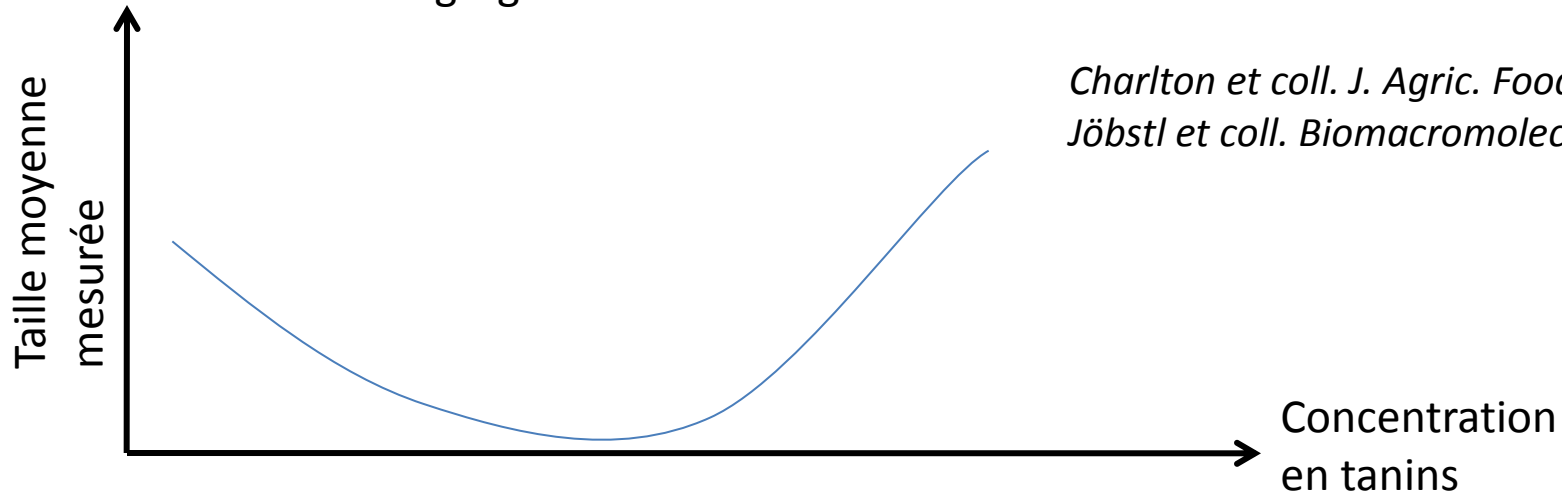
=> Interactions tanins/protéines **pas de site spécifique** identifié
mais il semble que le motif ...-Pro-Pro-... soit favorable

Baxter et coll. Biochemistry (1997).

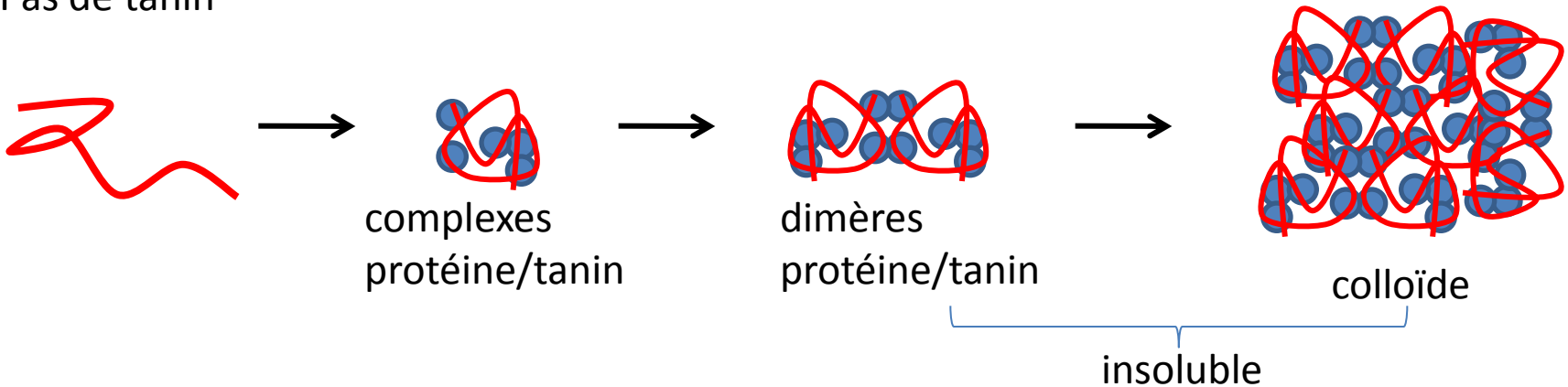
Études en solution

- Diffusion, SAXS, etc...

=> agrégation avec l'addition de tanins



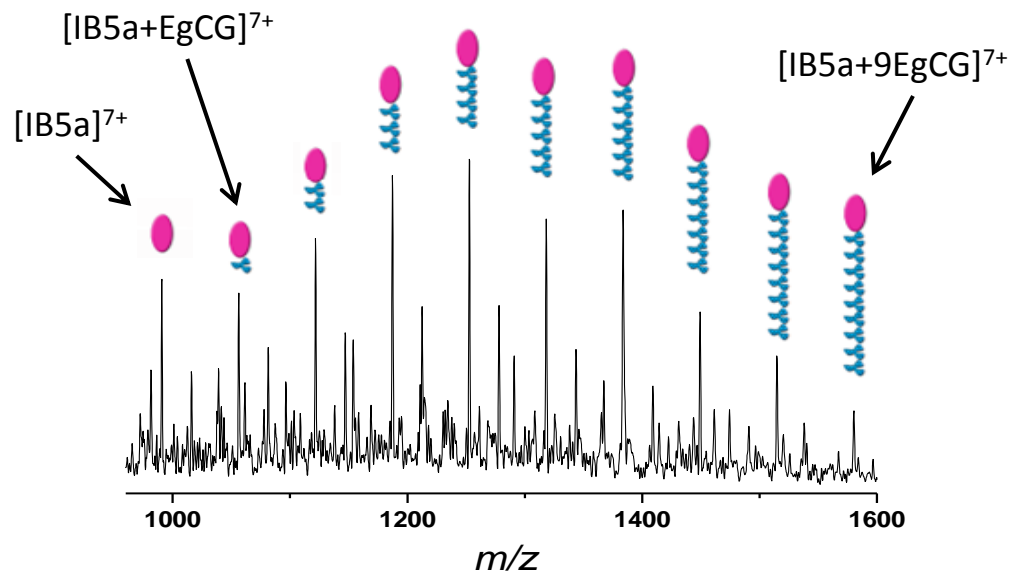
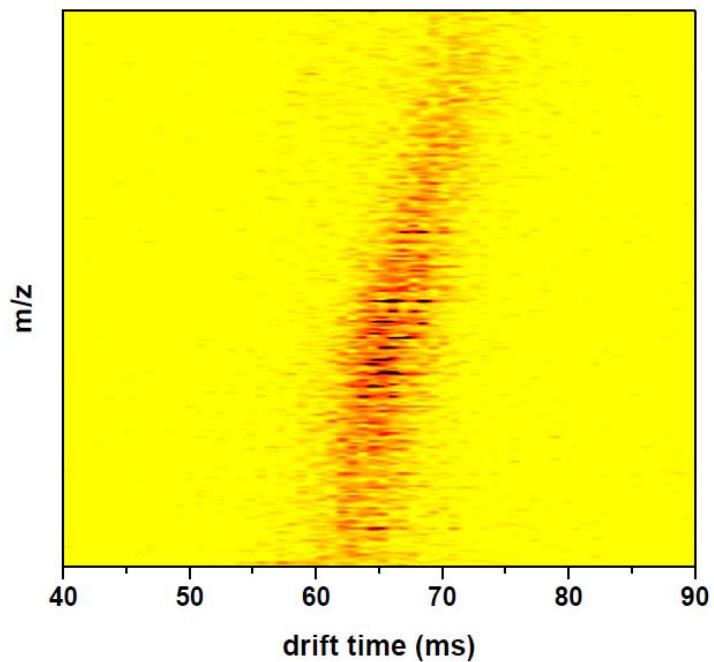
Pas de tannin



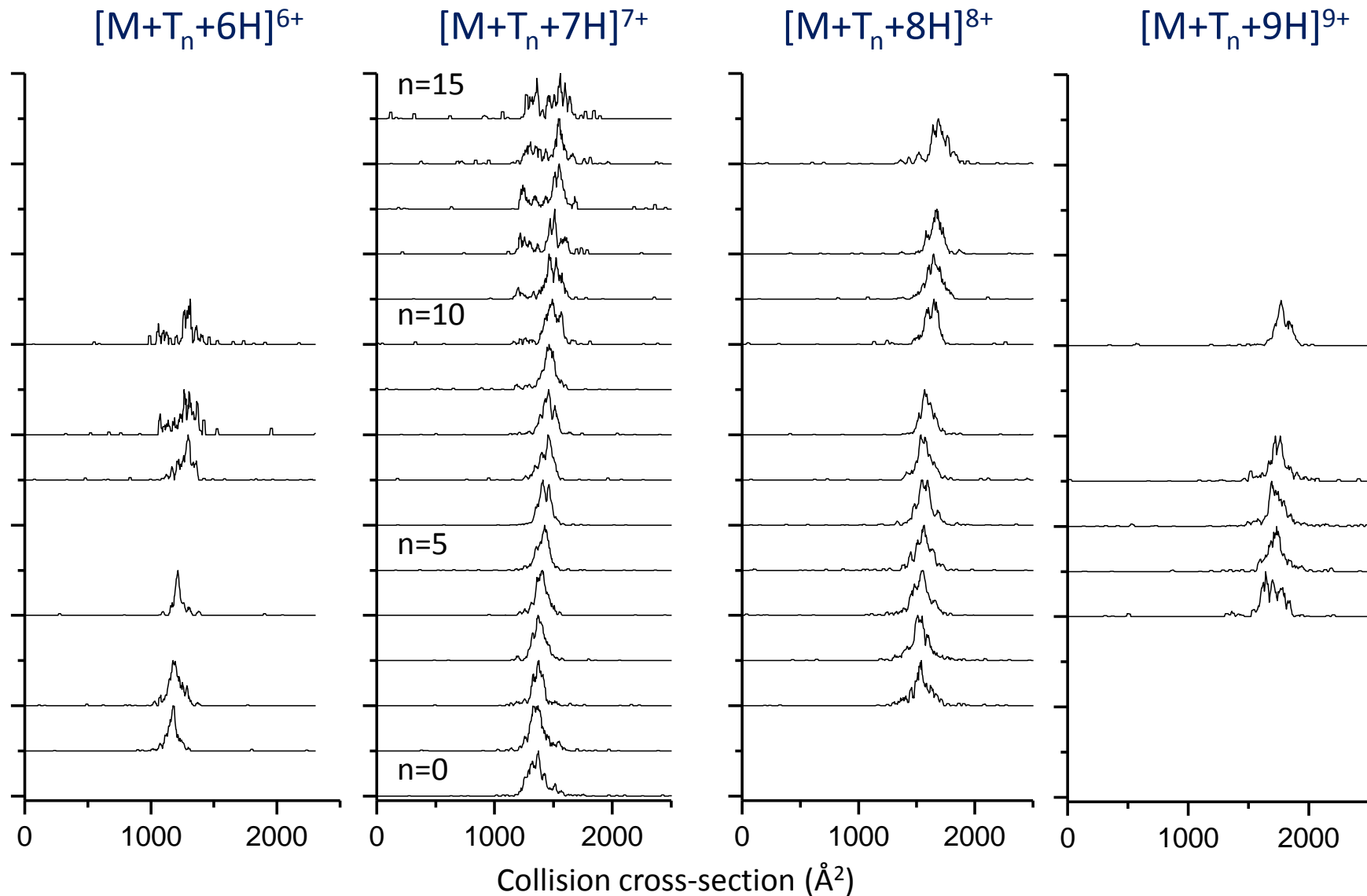
But des manip de mobilité ionique

- étude en phase gaz => connaître précisément la **stoechiométrie** des complexes
- **évolution de la conformation** lors de la complexation
- premiers stades du processus d'agrégation?

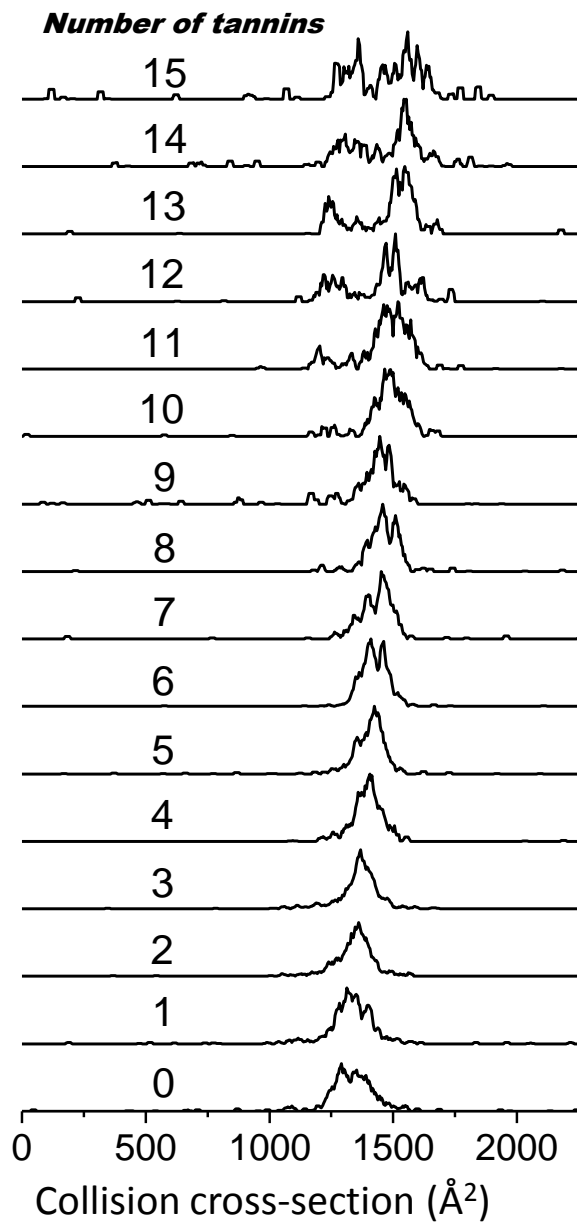
Résultats expérimentaux - IB5/EGCG



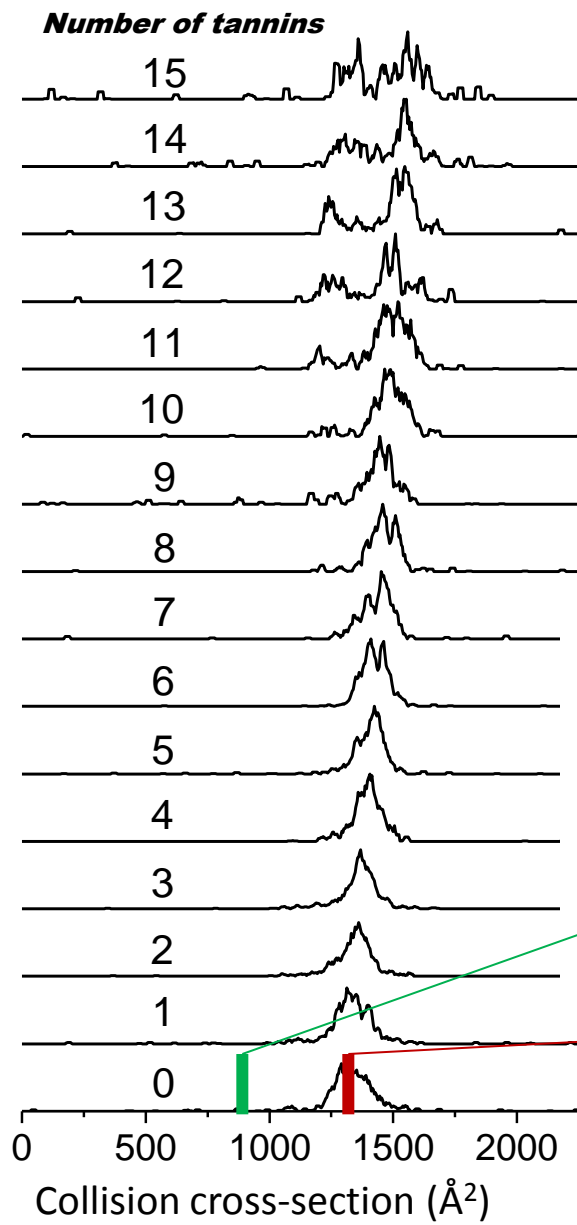
Résultats expérimentaux - IB5/EGCG



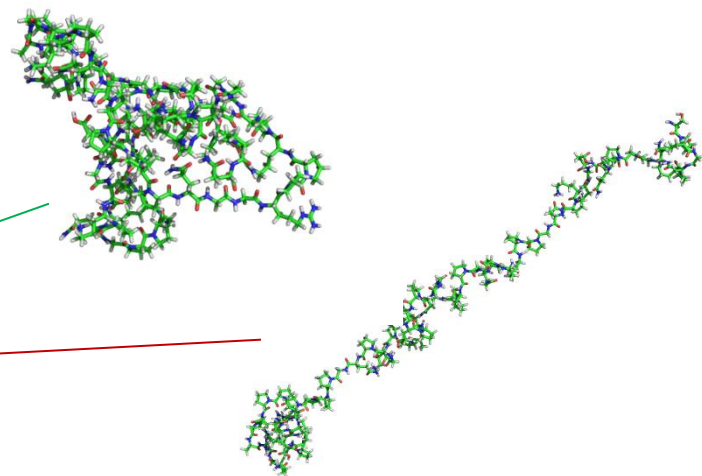
Résultats expérimentaux - IB5/EGCG



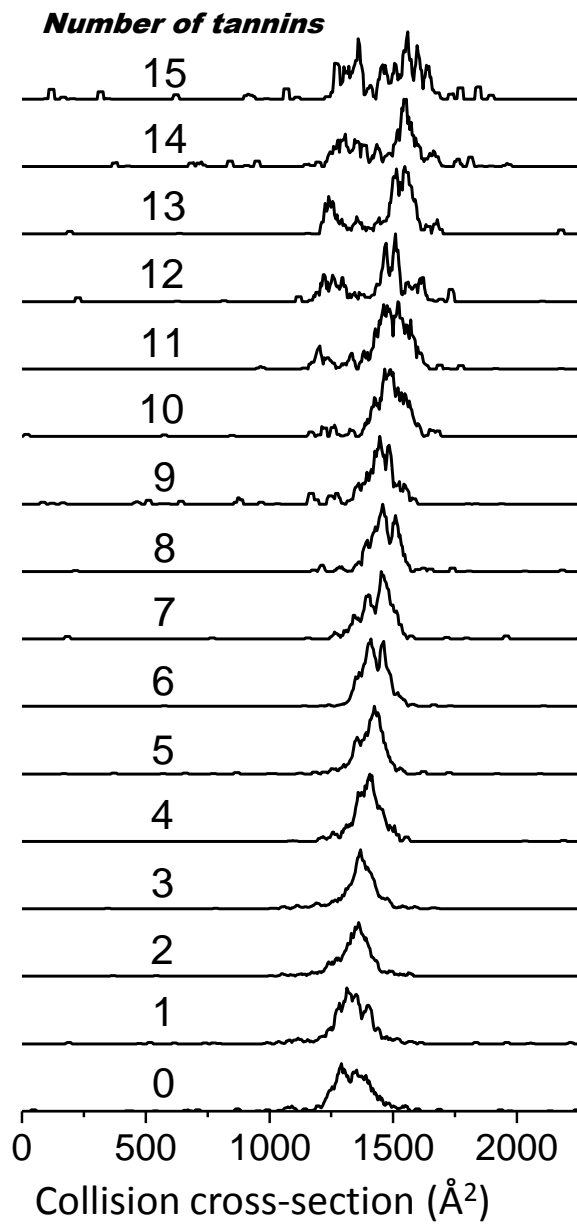
Résultats expérimentaux - IB5/EGCG



- Section efficace relativement élevée
(en accord avec une conformation dépliée)



Résultats expérimentaux - IB5/EGCG

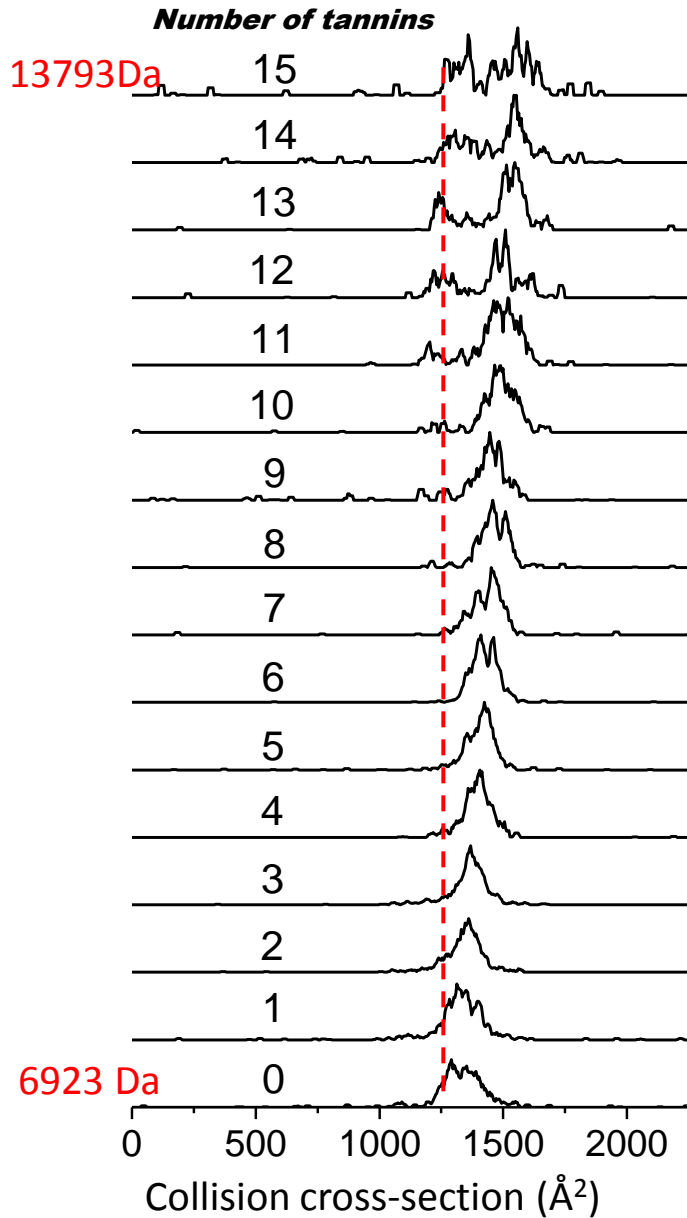


- Section efficace relativement élevée
(en accord avec une conformation dépliée)

- Lente augmentation de la section efficace
avec le nombre de tanins

- Apparition de conformations compactes
pour des degrés de complexation élevés

Résultats expérimentaux - IB5/EGCG

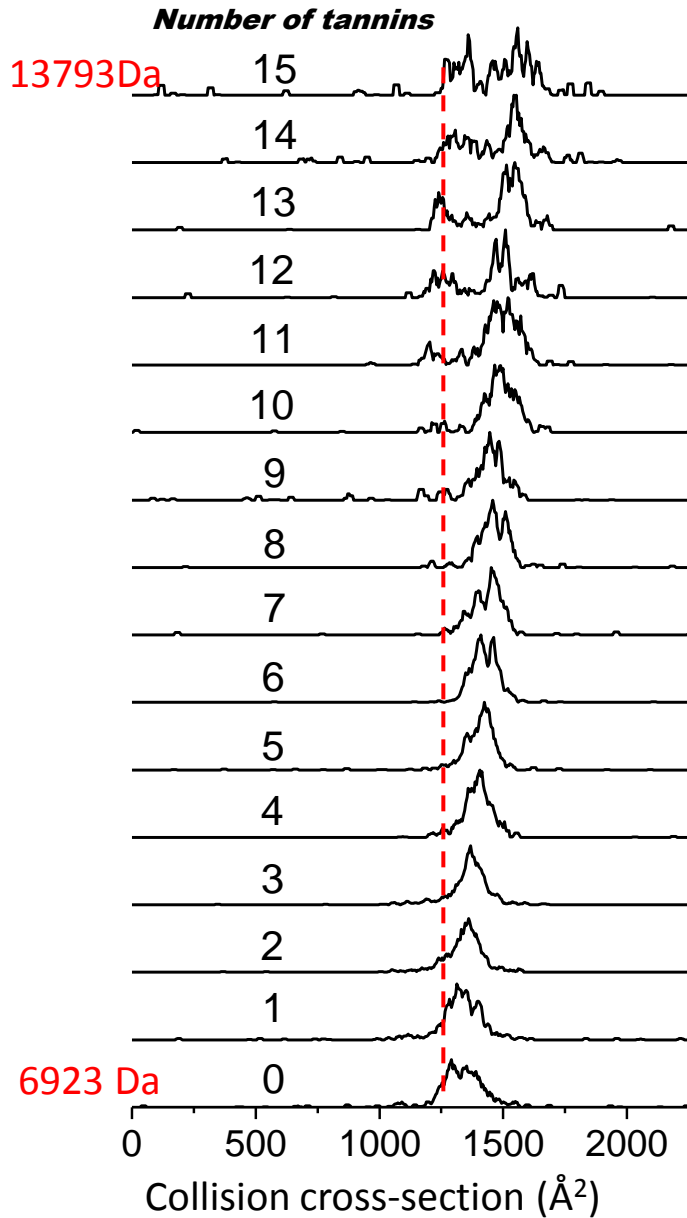


- Section efficace relativement élevée
(en accord avec une conformation dépliée)

- Lente augmentation de la section efficace
avec le nombre de tanins

- Apparition de conformations compactes
pour des degrés de complexation élevés

Résultats expérimentaux - IB5/EGCG



- Section efficace relativement élevée
(en accord avec une conformation dépliée)

- Lente augmentation de la section efficace
avec le nombre de tanins

- Apparition de conformations compactes
pour des degrés de complexation élevés

Modélisation - IB5/EGCG

Modèle « gros grains grossier »:

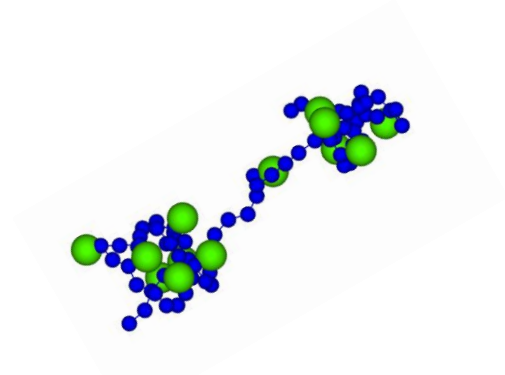
- 1 acide aminé = 1 grain
- 1 tanin = 1 grain

Interactions Lenhardt-Jones

- attractive tanin/acide aminé
- attractive ou répulsive entre les tanins
=> tester l'effet de l'agrégation de monomère ou de polymères sur la conformation

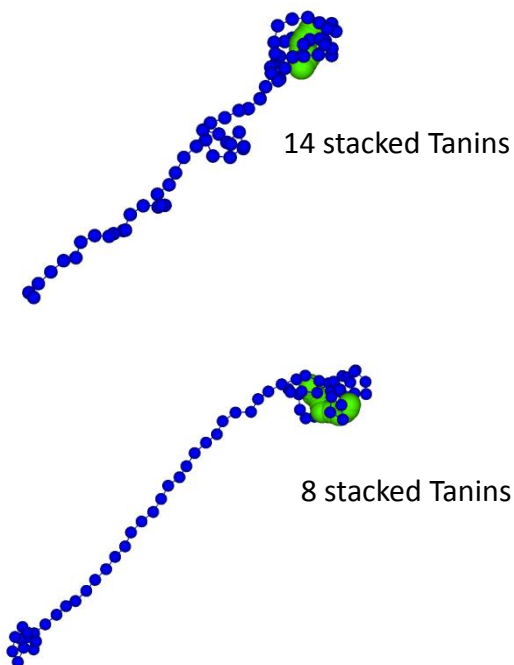
Recherche conformationnelle:

- Replica-Exchange Monte-Carlo **avec un biais** sur le rayon de gyration
=> guider l'exploration vers les résultats expérimentaux



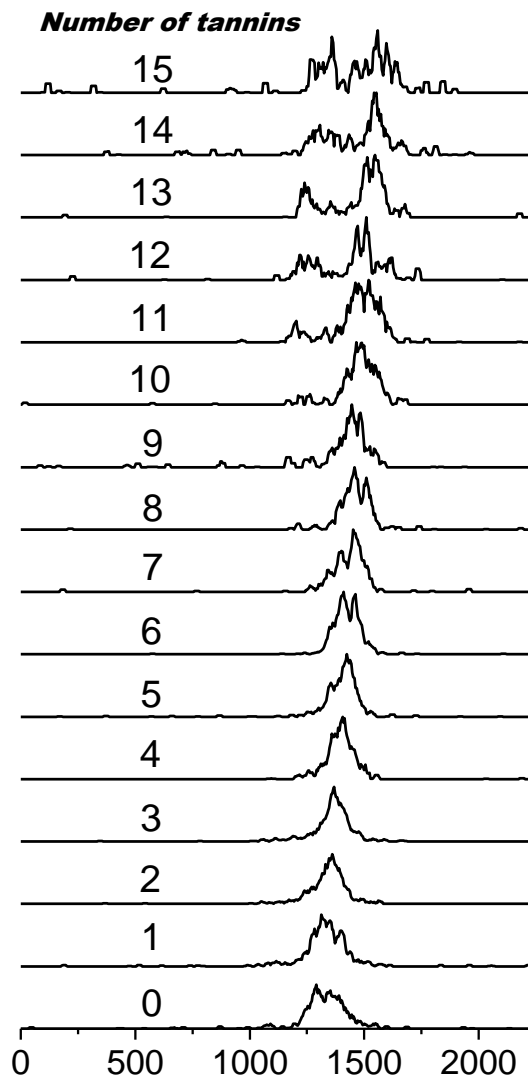
Modélisation - IB5/EGCG

Collage de tanins empilés

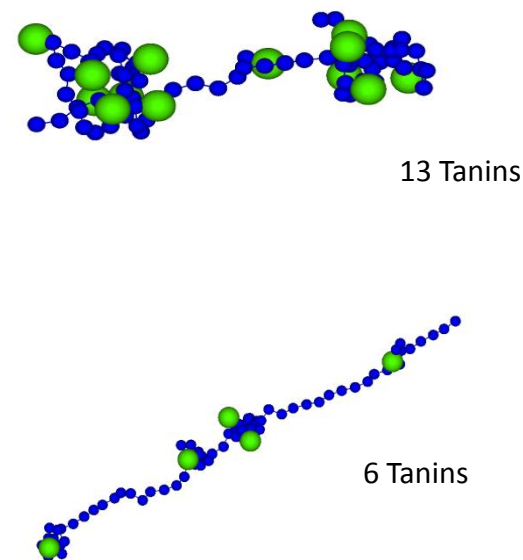


⇒ **Repliement** autour des tanins

= compatible avec une structure compacte



Collage de tanins uniques



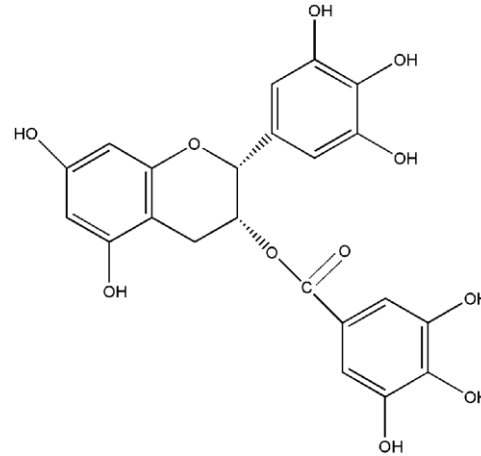
⇒ **Dépliement** pour pouvoir fixer des tanins

= incompatible avec une structure compacte

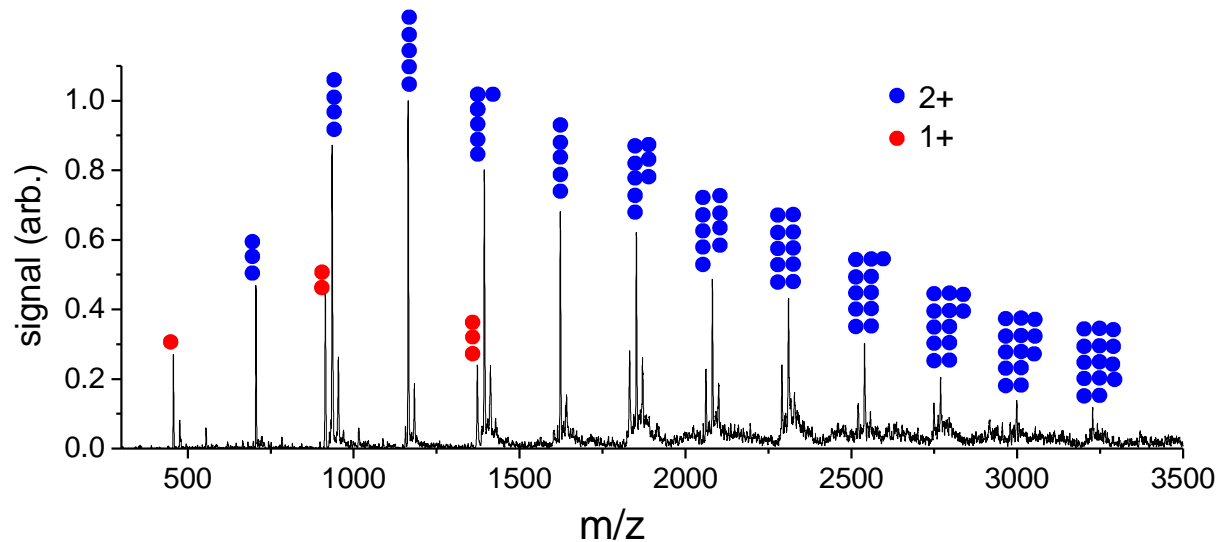
Agrégats de tanins

Tanin: **EGCG**

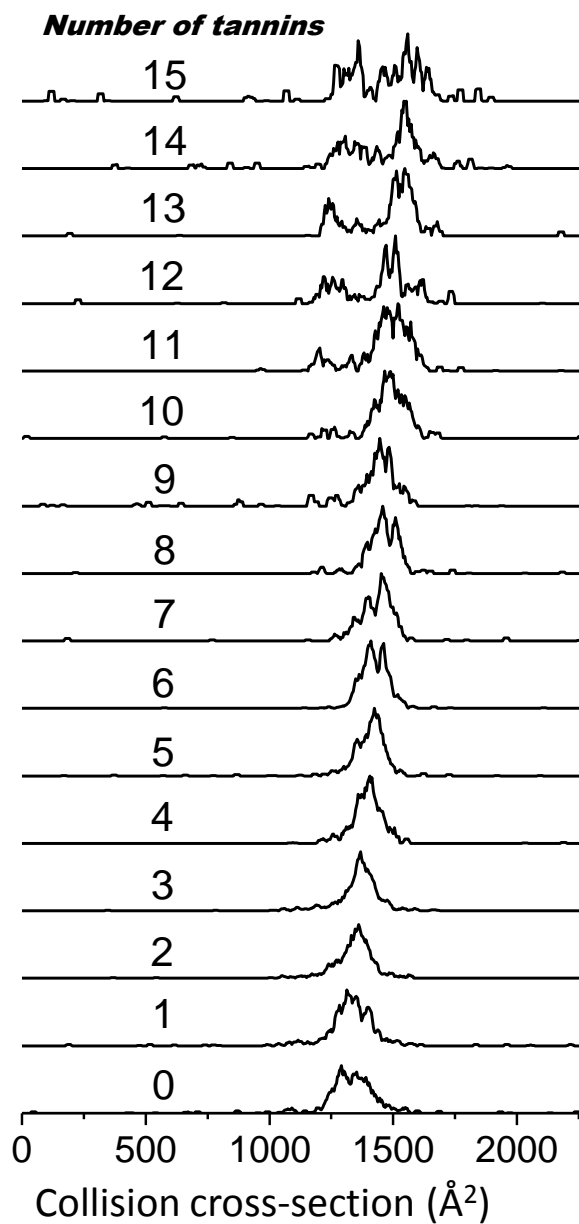
Epigallocatechin gallate
(Mw 458)



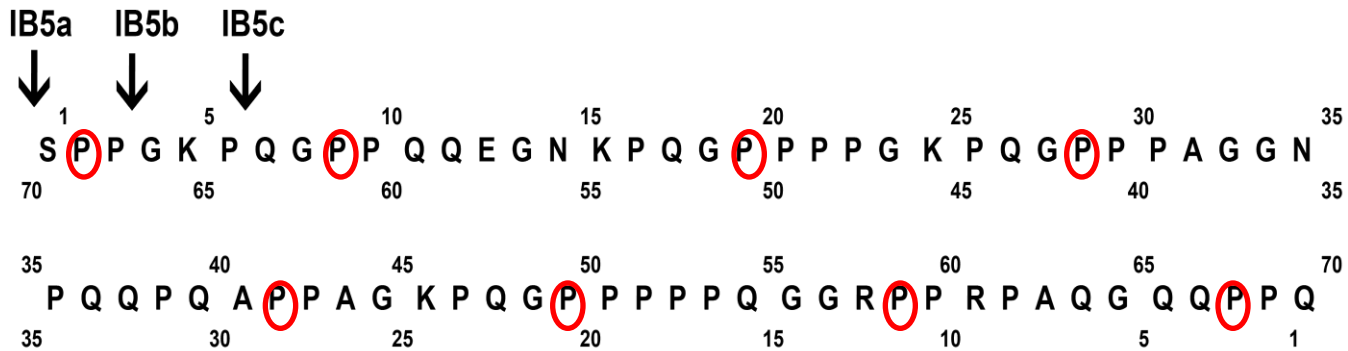
Forme des agrégats en solution (ici jusqu'à 14 tanins)



Résultats expérimentaux - IB5/EGCG



Discussion « avec les mains » - IB5/EGCG



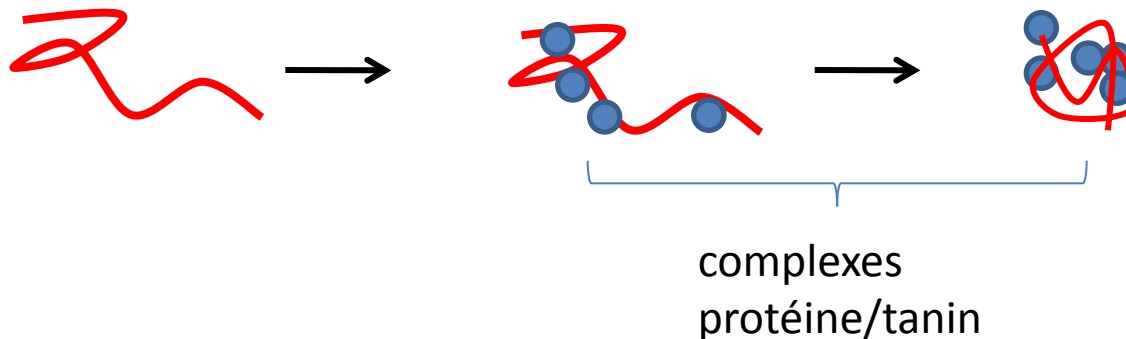
- 8 sites potentiels de fixation

=> collage possible de 8 EGCG, puis il faut coller des dimères (voire plus...)

Conclusion

- Évolution de la conformation d'agrégats protéine/tanins dans les premiers stades de l'agrégation
- d'abord augmentation de la section efficace si le nombre de tanins augmente
- Puis apparition de **conformations plus compactes** à partir de 8-9 tanins
- Explication possible = 2 régimes:

1. Collage de tanins seuls jusqu'à saturation des possibilités de complexation
2. Collage d'agrégats de tanins



Remerciements

LASIM:

Ph. Dugourd
R. Antoine

LSA:

J. Lemoine

Doctorants:

- **R. Ballivian**
- F. Albrieux

Laboratoire pour l'œnologie, Montpellier:

Francis Canon, Pascale Sarni-Manchado