



Olivier Laprèvote, ICSN : Institut de Chimie des Substances Naturelles - Gif-sur-Yvette
Jean-Claude Maurizot, CBM : Centre de Biophysique Moléculaire - Orléans
CEPIA : Caractérisation et Elaboration des Produits Issus de l'Agriculture, INRA - Nantes
Jacques Delwiche et Marie-Jeanne Hubin-Franskin : Département de Chimie, Université de Liège - Belgique



Matthieu Réfrégiers
responsable de la ligne



Alexandre Giuliani
(INRA) scientifique
spectrométrie de masse



Frédéric Jamme
(INRA) scientifique - imagerie
Lignes DISCO/ SMIS

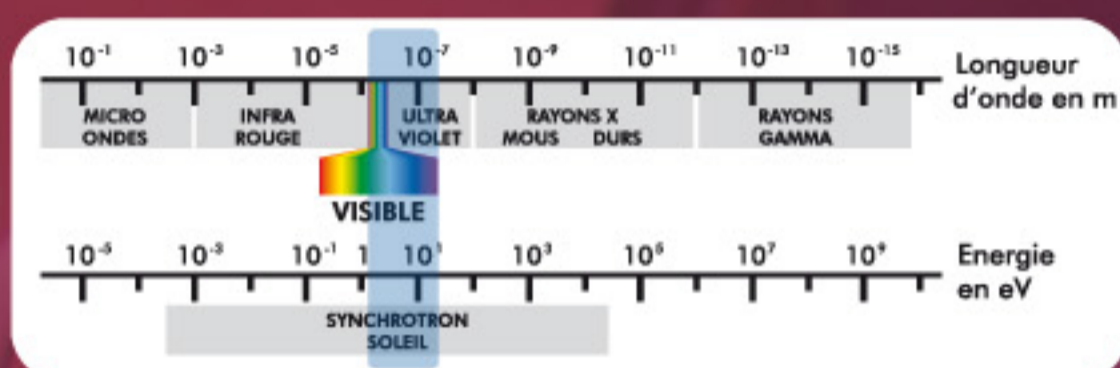


Frank Wien
scientifique
dichroïsme circulaire



Valérie Rouam
assistante ingénieur

Gamme d'énergie couverte par DISCO : 1 – 20 eV
soit 60 à 800 nm de longueur d'onde



Source de lumière : le rayonnement synchrotron est produit par un aimant de courbure

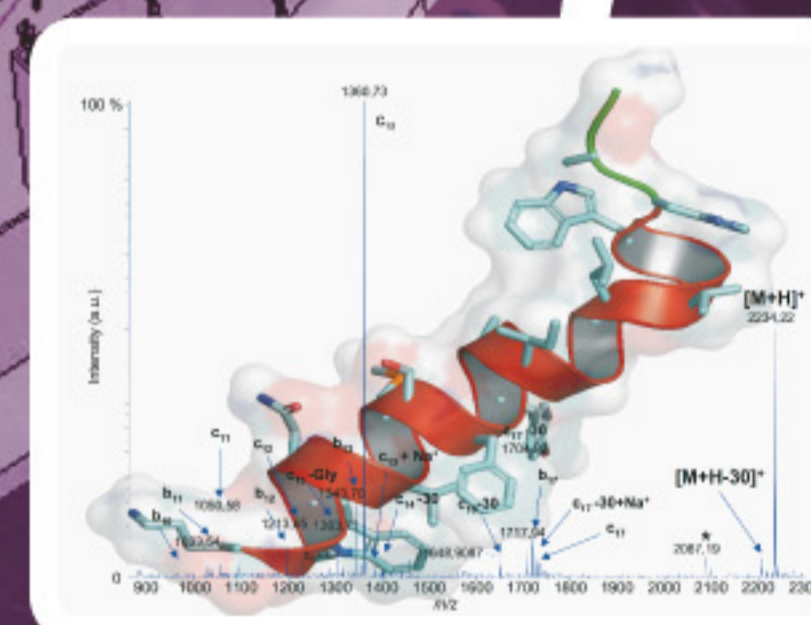
Techniques d'analyse employées :

- Dichroïsme circulaire en VUV (Vacuum UltraViolet)
- Spectrométrie de masse après photoionisation VUV
- Imageries de fluorescence avec possibilités spectrales et de durée de vie

DISCO, Dichroïsme, Imagerie, Spectrométrie de masse pour la Chimie et la biologie

De la molécule au tissu

Zoom : Combinaison de techniques d'analyse : Etude d'une glycoprotéine de l'enveloppe du virus de l'hépatite C



Spectre de masse en APPI du peptide issu de la glycoprotéine virale. La structure du peptide est représentée en arrière-plan.

Une version raccourcie de la protéine de l'enveloppe du virus de l'hépatite C, peptide comprenant un domaine transmembranaire (acides aminés 350-320), a été la cible d'expériences par dichroïsme circulaire avec rayonnement Synchrotron (SR-CD) et photo-ionisation à pression atmosphérique (APPI) couplée à la spectrométrie de masse.

Le SR-CD permet de déterminer la structure secondaire du peptide (hélice α , feuillet β ...) et surtout de suivre la dynamique de son repliement lors de changements de température et de solvant.

L'APPI induit des fragmentations abondantes du peptide, dont la spectrométrie de masse permet de connaître la masse et la séquence en acides aminés (structure primaire).

Les profils de fragmentations varient selon le solvant et la température.

La dénaturation thermique du peptide varie avec sa composition et selon le solvant.

On observe une augmentation du contenu en feuillet β et une perte de contenu en hélice α dans un milieu plus hydrophile.

On a par ailleurs démontré que l'oligomérisation de ce peptide est essentielle à la fusion membranaire du virus. Or l'augmentation du contenu du peptide en feuillet β entraîne une diminution de l'oligomérisation.

L'ensemble de ces résultats offre une piste à explorer dans la lutte contre l'infection par ce virus : tenter d'inhiber l'étape de fusion virale en modifiant la structure secondaire de la protéine de l'enveloppe (augmentation des feuillets β).

Thématiques et applications

→ Colocalisation de polymères dans des tissus végétaux (peaux de légumes, feuilles, graines, ...)

Applications en biologie végétale

→ Analyse microscopique de défauts dans les matériaux ; topologie d'inclusions prébiotiques et fossiles dans les roches

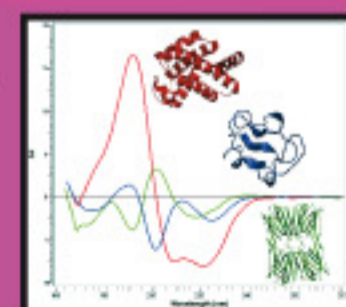
Applications en sciences des matériaux, géologie

→ Détermination de la structure secondaire et de la dynamique de protéines et d'ADN ; étude de la structure de sucres ; spectroscopie de masse des protéines

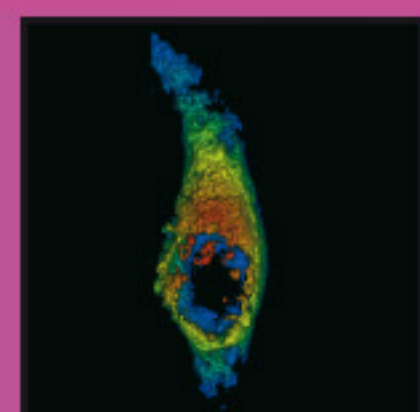
Applications en biochimie, biologie

→ Imagerie de réactions biologiques dans des cellules isolées (avec protéines fluorescentes) ; auto-fluorescence de cellules et tissus tumoraux ; distribution des médicaments dans les tissus humains ; diagnostic de cellules hydrophobes

Applications en biochimie, biologie



Spectres de dichroïsme circulaire caractéristiques des structures secondaires des protéines (rouge : hélice α ; bleu : feuillet β ; vert : autres).



Cellule cancéreuse traitée avec un médicament anticancéreux (hypocrelline) activé par la lumière, observée en microscopie.