

Translocation de polyélectrolytes, transport et dépliement de protéines à travers des nanopores

Juan Pelta

*Equipe Matériaux Polymères aux Interfaces,
Laboratoire Analyse et Modélisation pour la Biologie et l'Environnement, UMR 8587,
Université d'Évry et Université de Cergy-Pontoise
juan.pelta@bio.u-cergy.fr, Jpelta@univ-evry.fr*

Les membranes de lipides sont des barrières physiques qui délimitent la cellule et isolent les fonctions biologiques dans des compartiments bien définis. De nombreuses protéines doivent les franchir ou s'y insérer pour trouver leur place correcte dans la cellule. Les protéines transportées, à travers des machineries constituées de protéines, sont en général dans un état déplié et elles doivent être repliées correctement pour acquérir leurs propriétés fonctionnelles, ou elles sont dépliées pour être dégradées. De nombreuses pathologies sont associées à un mauvais repliement ou à un mauvais transport des protéines, il est ainsi important d'étudier ces deux processus et leur relation.

Notre approche consiste à étudier les propriétés dynamiques de la translocation de polyélectrolytes et de protéines dépliées en fonction de la géométrie et de la structure de pores protéiques, α -hémolysine ou aerolysine, et de l'environnement biochimique. Les expériences sont réalisées à l'échelle de la molécule unique. Un canal protéique est inséré dans une bicouche lipidique, on applique une différence de potentiel qui induit un courant ionique à travers le pore, en présence de sel, le passage d'une molécule à travers le canal est détectée par une chute du courant. La fréquence d'entrée de molécules portant des charges électriques dans un pore dépend de la force électrique appliquée, des concentrations en sel ou en molécules, de la géométrie et de la charge électrique du pore. Le temps de translocation diminue quand la différence de potentiel augmente et croît quand la taille de la chaîne augmente.

Nous étudions également le dépliement de protéines, comme la MBP (Maltose Binding Protein) et des mutants, déficients pour le transport ou pour le repliement, à travers des pores. Les protéines natives sont trop volumineuses pour passer à travers le pore. Nous utilisons un agent dénaturant (Guanidium) pour contrôler leur dépliement, total ou partiel, sans affecter la conformation du pore. En fonction de la concentration en agent dénaturant présent en solution, nous observons des états partiellement et complètement dépliés, dont nous étudions la durée de vie et leur fréquence. Il est ainsi possible de suivre, à partir des fréquences de blocages de courant, le processus de dépliement de protéines en molécule unique. La durée de vie des états intermédiaires de la protéine diverge au voisinage de la transition de dénaturation et confirme l'analogie entre protéines et systèmes vitreux prévue par de nombreuses théories.

