



HAL
open science

Structure des protéines stabilisatrices des réserves lipidiques de plantes oléagineuses

Yann Gohon, Marine Froissard, Thierry Chardot, Pierre Briozzo, Christophe Tribet, Franck Wien, Alexandre A. Giuliani

► **To cite this version:**

Yann Gohon, Marine Froissard, Thierry Chardot, Pierre Briozzo, Christophe Tribet, et al.. Structure des protéines stabilisatrices des réserves lipidiques de plantes oléagineuses. 2012. hal-02808794

HAL Id: hal-02808794

<https://hal.inrae.fr/hal-02808794>

Submitted on 6 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



INRA en
LUMIÈRE
5 ANS DE PARTENARIAT
AVEC SOLEIL



SOMMAIRE

ÉDITO

SOLEIL	4
INRA	5

SYNCHROTON SOLEIL

Le synchrotron SOLEIL, un centre de recherches et un outil au service des scientifiques	6
Les modalités d'accès à SOLEIL	9

PANORAMA DES RECHERCHES

ENZYMES ET PROTÉINES

Étude structurale des prolamines isolées à partir de l'albumen de blé	12
D. Renard et al. - Ligne DISCO	
Étude structurale de la protéine salivaire humaine IBS seule et en interaction avec un tanin	14
P. Sarni-Manchado et al. - Ligne DESIRS	
Relations structure-allergénicité dans les protéines de blé	16
J. Snégaroff et al. - Ligne DISCO	
Structures tridimensionnelles de protéines résolues sur la ligne de lumière PROXIMA-1	18
P. Briozzo et al. - Ligne PROXIMA1	
Cartographie UV à haute résolution et hydrolyse enzymatique de l'amidon	20
A. Buléon et al. - Ligne DISCO	
Structure – fonction des protéines phloémiennes PP2 chez <i>Arabidopsis thaliana</i>	22
D. Renard et al. - Ligne SWING	
Conformation en solution de protéines salivaires révélée par diffusion de rayons X aux petits angles (SAXS)	24
A. Vermhet et al. - Ligne SWING	
Structure des protéines stabilisatrices des réserves lipidiques de plantes oléagineuses	26
Y. Gohon et al. - Ligne DISCO	

MATIÈRES MOLLE & PHYSICO-CHIMIE

Structure de la micelle de caséine : une nouvelle proposition	28
A. Bouchoux et al. - Ligne SWING	
SAXS et synthèse enzymatique de polymères : détermination simultanée des conformations de transglucosidases et des polysaccharides produits	30
P. Robin et al. - Ligne SWING	
Oxydation des tanins en solution et diffusion de rayons X aux petits angles (SAXS)	32
C. Poncet-LeGrand et al. - Ligne SWING	
Structures cristallines formées par les triglycérides du lait : identification par diffraction des rayons X en utilisant le rayonnement synchrotron	34
C. Lopez et al. - Ligne SWING	
Agrégation entre tanins condensés et le polysaccharide hyaluronane	36
F. Cam et al. - Ligne SWING	
Caractérisation des couches de protéines accumulées lors des opérations de filtration et diffusion de rayons X	38
G. Gesan-Guizou et al. - Ligne SWING	

PRODUITS ANIMAUX

Étude de la dénaturation thermique des composants musculaires par microscopie infrarouge	40
T. Astruc et al. - Ligne SMIS	
Caractérisation de la composante protéique du foie gras en imagerie de fluorescence haute résolution	42
L. Theron et al. - Ligne DISCO	

PAROIS VÉGÉTALES ET FIBRES

Orientation sous contrainte des polysaccharides de la paroi du grain de blé : couplage sollicitation mécanique – microscopie infrarouge	44
C. Barron et al. - Ligne SMIS	
Imagerie du fer dans la cellule végétale : découverte d'un nouveau pool de fer dans le nucléole	46
H. Roschardt et al. - Ligne LUCIA	
Hétérogénéité chimique des parois de tige de blé et modifications par saccharification enzymatique	48
A. Habrant et al. - Ligne SMIS	
Apport de la microscopie infrarouge et de l'imagerie de fluorescence haute résolution pour l'étude du grain de <i>Brachypodium</i>	50
F. Guillon et al. - Ligne SMIS	
Cartographie de la distribution des polymères dans les tiges de maïs par couplage d'images hyperspectrales dans le moyen infrarouge, en fluorescence UV et Raman	52
F. Allouche et al. - Lignes DISCO et SMIS	
Microanalyse à haute résolution du bois et dendrochronologie des arbres tropicaux	54
S. Ponton et al. - Ligne DIFFABS	

PETITES MOLÉCULES ET LIPIDES

Suivi de l'oxydation d'une émulsion lipidique par imagerie dynamique de fluorescence	56
M.-E. Cuvelier et al. - Ligne DISCO	
Corrélation entre la répartition des lipides et de FABP7 dans des cerveaux embryonnaires de rat	58
J. Aïoun et al. - Ligne SMIS	
Mesure des énergies d'ionisation de l'E-lycopène, de ses isomères Z et de ses produits d'oxydation par photoionisation à pression atmosphérique couplée à la spectrométrie de masse	60
M. Carail et al. - Ligne DISCO	

MICRO-ORGANISMES

Levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i> soumise au stress nano-argent : analyse haute résolution de la composition cellulaire par microscopie infra-rouge	62
C. Saulou et al. - Ligne SMIS	
Vers la compréhension de la résistance à la congélation de bactéries lactiques grâce à la microscopie infrarouge haute résolution	64
F. Fonseca et al. - Ligne SMIS	
Mise en évidence des modifications métaboliques induites par l'accumulation de lipides dans la levure <i>S. cerevisiae</i> par sFTIR sur cellules uniques	66
M. Froissard et al. - Ligne SMIS	

PROCÉDÉS

Imagerie dynamique de l'imprégnation en huile de produits frits étudiée en fluorescence UV	68
O. Vitrac et al. - Ligne DISCO	
Mécanismes moléculaires de diffusion de substances de type additifs dans les matrices plastiques étudiés par imagerie de fluorescence : application à la sécurité sanitaire des emballages	70
O. Vitrac et al. - Ligne DISCO	
Orientation macromoléculaire déterminée par microscopie infrarouge dans les matériaux à mémoire de forme en amidon	72
A. Buléon et al. - Ligne SMIS	

DÉVELOPPEMENTS INSTRUMENTAUX POUR LES LIGNES DE LUMIÈRE

SMIS : Spectroscopie et Microscopie Infrarouge utilisant le rayonnement Synchrotron	74
F. Jamme et al. - Ligne SMIS	
La ligne de lumière DISCO, de sa conception à son exploitation	76
A. Giuliani et al. - Ligne DISCO	
Imagerie sur la ligne de lumière DISCO (Dichroism, Imaging and mass Spectrometry for Chemical and biological systems)	78
F. Jamme et al. - Ligne DISCO	
Utilisation du rayonnement synchrotron pour l'activation d'ions en spectrométrie de masse tandem	80
A. Giuliani et al. - Ligne DESIRS	
La ligne de lumière SWING : Small and Wide angles X-rays scatterING	82
J. Periz et al. - Ligne SWING	

PORTRAITS 84

INDEX 87



Structure des protéines stabilisatrices

des réserves lipidiques de plantes oléagineuses

Chercheurs impliqués

Y. Gohon¹, M. Froissard², T. Chardot¹, P. Briozzo¹, C. Tribet³, F. Wien⁴, A. Giuliani^{1,4}

1. UMR 1318 IJPB, INRA AgroParisTech, Versailles, France
2. UMRS 8640, CNRS ENS, Paris, France
3. Synchrotron Soleil, Gif-sur-Yvette, France
4. UAR 1008 CEPIA, INRA, Nantes, France

Contact

Yann Gohon & Pierre Briozzo, Institut Jean-Pierre Bourgin Versailles
 yann.gohon@versailles.inra.fr
 pierre.briozzo@versailles.inra.fr

L' extraction des huiles à partir des graines de plantes oléagineuses est un procédé coûteux en énergie (chauffage) et polluant (utilisation de solvants organiques comme l'hexane). Les lipides de réserve des graines sont stockés dans des corps lipidiques appelés oléosomes. À la surface de ces oléosomes se trouvent des protéines, majoritairement des oléosines et la caléosine, ainsi que d'autres protéines mineures. Ces protéines participent à la stabilisation des oléosomes et gênent l'extraction de l'huile. Le repliement et les fonctions de ces protéines sont peu connus. Leurs séquences contiennent une longue zone centrale entièrement hydrophobe de 50 (caléosine) à 70 (oléosines) acides aminés. Cette zone serait responsable de leurs interactions avec les corps lipidiques et de leur ancrage dans ces corps lipidiques et le cœur hydrophobe contenant les triglycérides.

Après avoir produit chez *Escherichia coli* et purifié les oléosines S3 et S5 ainsi que la caléosine d'*Arabidopsis thaliana*, différents tensioactifs ont été testés afin de maintenir ces protéines en solution aqueuse sans les dénaturer. Seuls les détergents anioniques comme le SDS (sodium dodecyl sulfate) et des polymères tensioactifs, les amphipols (APols), se sont révélés capables de maintenir plus de 60 % de ces protéines en solution après ultracentrifugation. Les amphipols, fournis dans le cadre d'une collaboration avec C. Tribet de l'ENS, sont des tensioactifs particuliers utilisés notamment pour maintenir les protéines membranaires sous forme native en solution aqueuse.

En collaboration avec les scientifiques de la ligne de lumière DISCO de SOLEIL (F. Wien, A. Giuliani) nous avons obtenu des spectres de SRCD de deux oléosines et de la caléosine maintenues en solution dans le SDS ou les APols. Ces données (Figure 1A) nous ont permis de proposer un modèle de repliement des oléosines et de la caléosines¹ en solution aqueuse (Figure 1B).

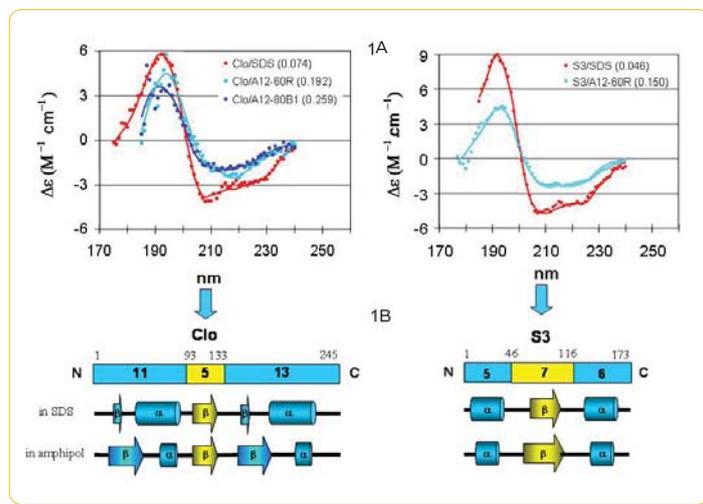


Figure 1 Spectres dichroïques et modèles des structures secondaires de deux protéines intégrales de l'oléosome, la caléosine et l'oléosine S3.

RÉSUMÉ

Les oléosines et la caléosine sont des protéines qui stabilisent les oléosomes de graines et gênent l'extraction de l'huile. Par dichroïsme circulaire utilisant le rayonnement synchrotron (SRCD) sur la ligne de lumière DISCO, nous avons déterminé le contenu en structures secondaires de deux oléosines et de la caléosine en solution dans différents tensioactifs. Leur ancre centrale hydrophobe serait repliée en feuillets bêta.

ABSTRACT

Oleosins and caleosins are proteins that stabilize seed oleosomes and hamper oil extraction. Using synchrotron radiation circular dichroism on the DISCO beamline, we determined the secondary structure content of two oleosins and caleosin. It suggests that their central hydrophobic anchoring region folds as beta sheets.

CONCLUSION

La partie centrale hydrophobe de ces protéines serait majoritairement en feuillets bêta. Les extrémités hydrophiles auraient quant à elles un contenu en structure secondaire changeant selon le tensioactif utilisé. Des résultats plus récents de SRCD ont également été obtenus sur des corps lipidiques de levure purifiés, contenant essentiellement l'oléosine S3 comme protéine intégrale. Ils indiquent la présence majoritaire de feuillets bêta dans cet environnement cellulaire plus proche de l'état physiologique.

Référence

1. Y. Gohon, J.-D. Vindigni, A. Pallier, F. Wien, H. Celia, A. Giuliani, C. Tribet, T. Chardot, P. Briozzo (2011) *BBA-Biomembranes*, 1808, 706-716.