

# Structure et repliement des protéines

Dirk Stratmann (dirk.stratmann@upmc.fr)

<http://www.imPMC.upmc.fr/~stratmann/>

IMPMC, Université Pierre et Marie Curie (Paris VI)

octobre 2017

# Plan

- 1 Structure 3D bis
- 2 Stabilité de l'état natif, replié
- 3 Processus du repliement
- 4 Techniques expérimentales
- 5 Protéines qui se replient rapidement
- 6 Repliement par dynamique moléculaire
- 7 Repliement in vivo
- 8 Bibliographie

- 1 Structure 3D bis
  - Chaînes latérales

# Chaînes latérales

# Conformations chaînes latérales

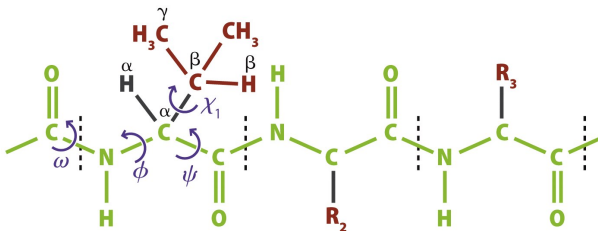


Figure 1.4 How Proteins Work (©2012 Garland Science)

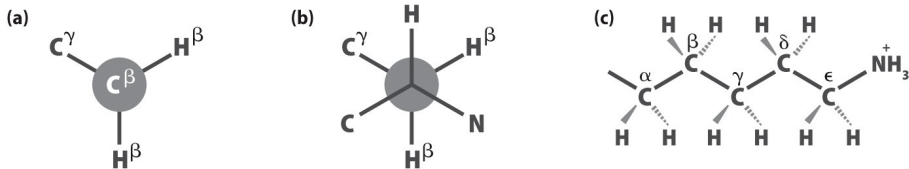
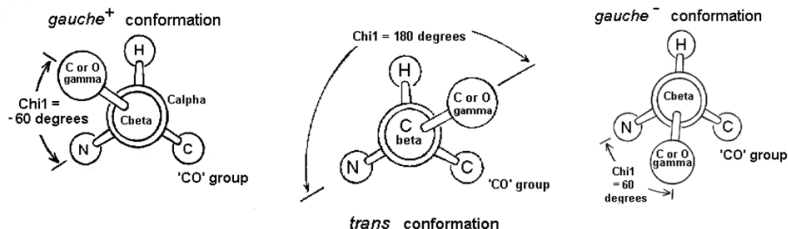


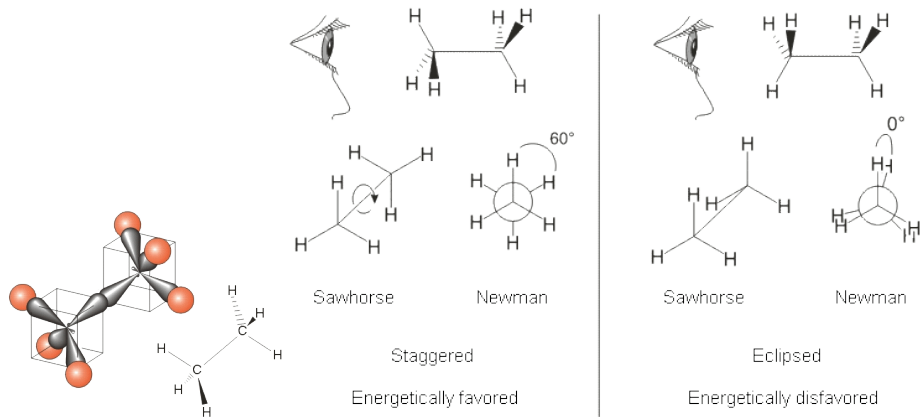
Figure 1.9 How Proteins Work (©2012 Garland Science)

## Conformations chaînes latérales



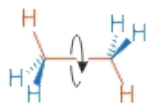
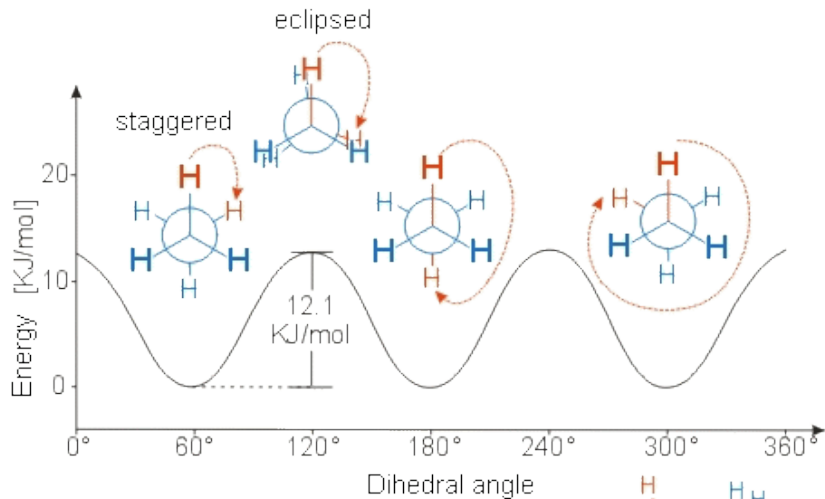
- Angles dièdres fréquence : gauche(+), trans puis gauche(-), instable
- Nomenclature  $\chi_1, \chi_2 \dots$
- Banque de rotamères; souvent mêmes angles pour  $\chi_1, \chi_2$ , formes décalées ( $-60^\circ, 60^\circ, 180^\circ$ ); Large gamme de  $\chi_2$  pour Asn et Asp, qui forment liaisons hydrogènes

## Rotamères de l'éthane



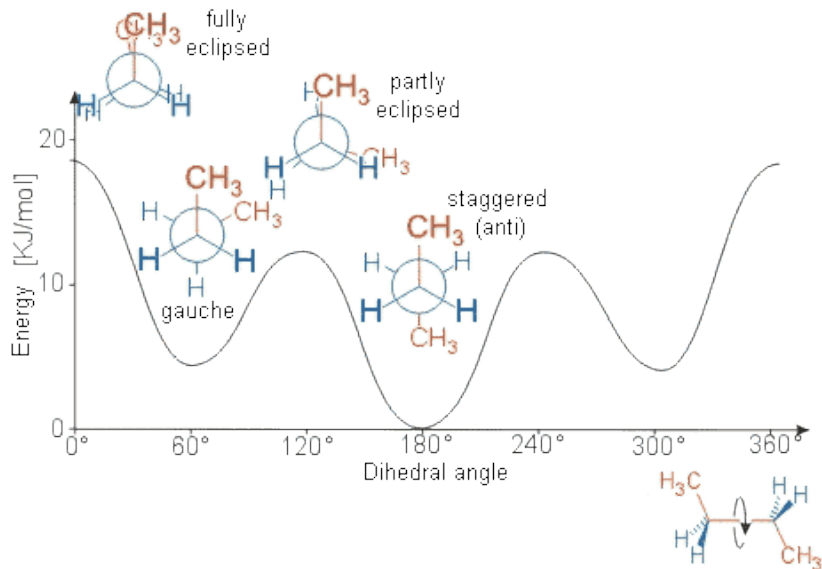
"Eclipsed": défavorable énergétiquement à cause de la répulsion entre les hydrogènes

## Rotamères de l'éthane

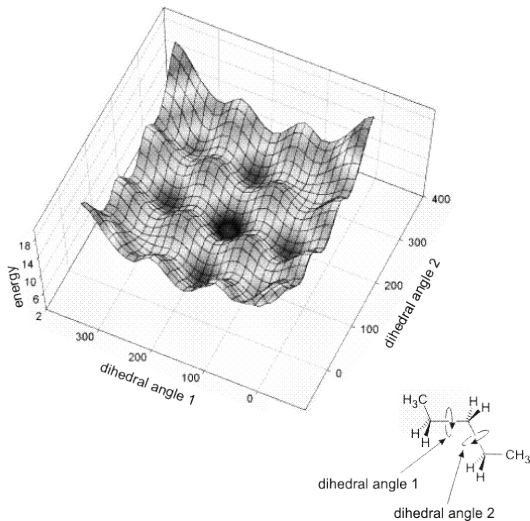




## Rotamères du butane





















## Rotamères de pentane



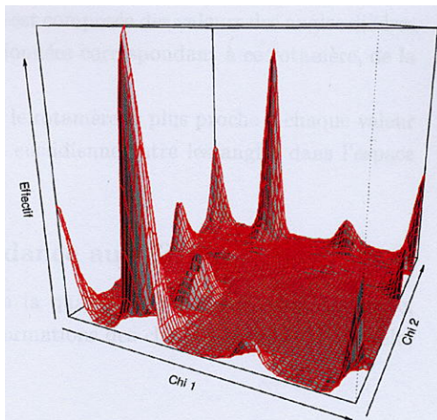
### 3D Models and properties of the energy minima of pentane

Tab. 7 | Conformations of energy minima

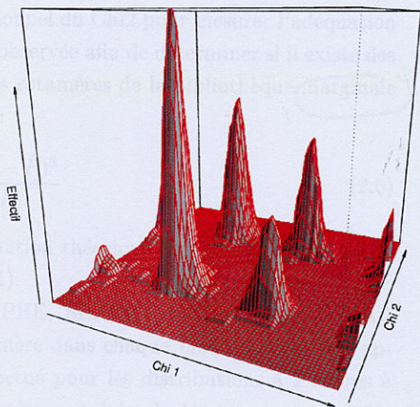
 <p style="text-align: right;">Jmol</p> <p style="text-align: center;">  </p>	 <p style="text-align: right;">Jmol</p> <p style="text-align: center;">  </p>	 <p style="text-align: right;">Jmol</p> <p style="text-align: center;">  </p>
$g^+g^+$ $\theta_1 = 300^\circ$ $\theta_2 = 300^\circ$ $C_2$ symmetry	$ag^+$ $\theta_1 = 180^\circ$ $\theta_2 = 300^\circ$	$g^+g^-$ $\theta_1 = 60^\circ$ $\theta_2 = 300^\circ$ $C_s$ symmetry
 <p style="text-align: right;">Jmol</p> <p style="text-align: center;">  </p>	 <p style="text-align: right;">Jmol</p> <p style="text-align: center;">  </p>	 <p style="text-align: right;">Jmol</p> <p style="text-align: center;">  </p>
$g^-a$ $\theta_1 = 300^\circ$ $\theta_2 = 180^\circ$	$aa$ $\theta_1 = 180^\circ$ $\theta_2 = 180^\circ$ $C_{2v}$ symmetry	$g^+a$ $\theta_1 = 60^\circ$ $\theta_2 = 180^\circ$
 <p style="text-align: right;">Jmol</p> <p style="text-align: center;">  </p>	 <p style="text-align: right;">Jmol</p> <p style="text-align: center;">  </p>	 <p style="text-align: right;">Jmol</p> <p style="text-align: center;">  </p>
$g^-g^-$ $\theta_1 = 300^\circ$ $\theta_2 = 60^\circ$ $C_s$ symmetry	$ag^-$ $\theta_1 = 180^\circ$ $\theta_2 = 60^\circ$	$g^-g^+$ $\theta_1 = 60^\circ$ $\theta_2 = 60^\circ$ $C_2$ symmetry

# Rotamères

ARG



PHE



## Rotamères des acides aminés

**Table I**  
**Side-Chain Dihedral Angles Used as Starting Points for Energy Minimization<sup>a</sup>**

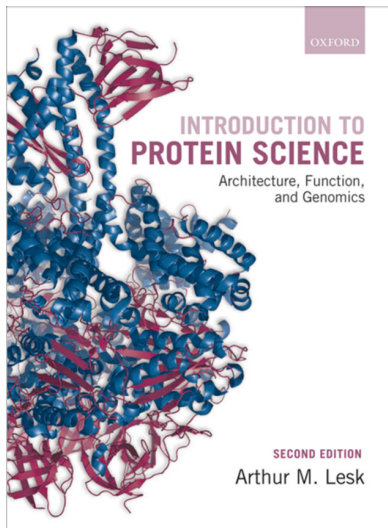
Residue	Side-chain dihedral angles, deg			
	$\chi^1$	$\chi^2$ <sup>b</sup>	$\chi^3$ <sup>c</sup>	$\chi^4$ <sup>d</sup>
Ala	60			
Arg	±60, 180	±60, 180	±60, 180	±60, 180 <sup>e</sup>
Asn	±60, 180	±30, ±90, ±150	180	
Asp	±60, 180	±30, ±90, ±150	0, 180	
Cys	±60, 180	±60, 180		
Gln	±60, 180	±60, 180	±30, ±90, ±150	180
Glu	±60, 180	±60, 180	±30, ±90, ±150	0, 180
Gly	<i>f</i>			
His <sup>g</sup>	±60, 180	±30, ±90, ±150		
Ile	±60, 180	±60, 180	60	60
Leu	±60, 180	±60, 180	60	60
Lys	±60, 180	±60, 180	±60, 180	±60, 180 <sup>h</sup>
Met	±60, 180	±60, 180	±60, 180	60
Phe	±60, 180	90, ±30		
Pro	<i>f</i>			
Ser	±60, 180	±60, 180		
Thr	±60, 180	±60, 180	60	
Trp	±60, 180	±30, ±90, ±150		
Tyr	±60, 180	±30, ±90, ±150	0	
Val	±60, 180	60	60	

## 2 Stabilité de l'état natif, replié

- Repliement des protéines - une bonne introduction
- Forces chimiques dans les protéines
- D'autres facteurs sur la stabilité des protéines
- Énergie libre de l'état natif

# Repliement des protéines - une bonne introduction

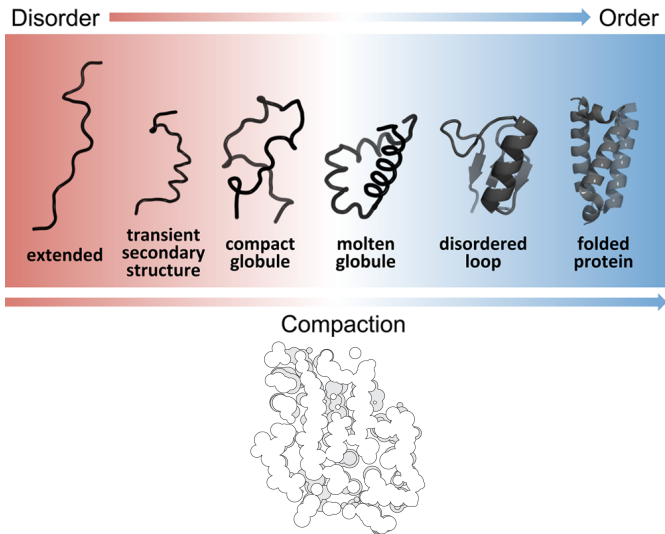
# Arthur M. Lesk - Introduction to protein science









# Forces chimiques dans les protéines

# Protéines globulaires



## Forces chimiques dans les protéines

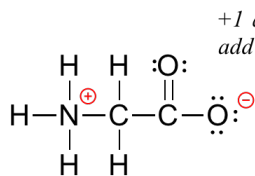
Chemical Interactions that Stabilize Polypeptides				
Interaction	Example	Distance dependence	Typical distance	Free energy (bond dissociation enthalpies for the covalent bonds)
Covalent bond	$-C_{\alpha}-C-$	-	1.5 Å	356 kJ/mole (610 kJ/mole for a C=C bond)
Disulfide bond	$-Cys-S-S-Cys-$	-	2.2 Å	167 kJ/mole
Salt bridge		Donor (here N), and acceptor (here O) atoms <3.5 Å	2.8 Å	12.5–17 kJ/mole; may be as high as 30 kJ/mole for fully or partially buried salt bridges (see text), less if the salt bridge is external
Hydrogen bond		Donor (here N), and acceptor (here O) atoms <3.5 Å	3.0 Å	2–6 kJ/mole in water; 12.5–21 kJ/mole if either donor or acceptor is charged
Long-range electrostatic interaction		Depends on dielectric constant of medium. Screened by water. $1/r$ dependence	Variable	Depends on distance and environment. Can be very strong in nonpolar region but very weak in water
Van der Waals interaction		Short range. Falls off rapidly beyond 4 Å separation. $1/r^6$ dependence	3.5 Å	4 kJ/mole (4–17 in protein interior) depending on the size of the group (for comparison, the average thermal energy of molecules at room temperature is 2.5 kJ/mole)

## Forces chimiques dans les protéines

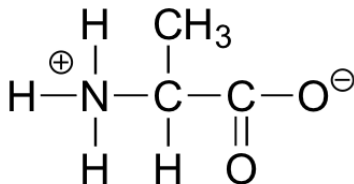
- Toutes les forces chimiques sont des forces électromagnétiques
- En théorie il suffirait d'écrire l'équation de Schrödinger puis résoudre le problème avec des méthodes de chimie quantique.
- Mais en pratique cela est impossible vu le grand nombre d'atomes d'une protéine
- On a besoin d'un modèle des interactions des centres des noyaux (appelé ici "atomes") sans traiter explicitement les électrons
- *Charges formelles*: montrent si un atome ou un ensemble d'atomes a perdu ou gagné un électron.

## Charges formelles

- Charge formelle =
  - nombre d'électrons de valence de l'atome isolé  
- nombre d'électrons de valence de l'atome lié
  - nombre d'électrons de valence de l'atome isolé  
- nombre d'électrons non-liés de l'atome lié  
- 1/2 nombre d'électrons liés de l'atome lié

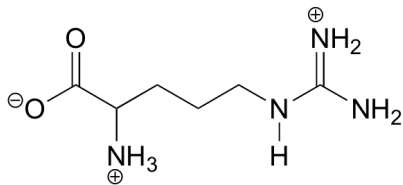


glycine  
(an amino acid)

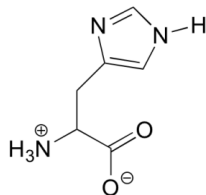


alanine

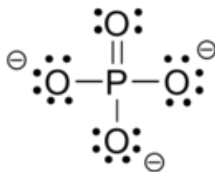
## Charges formelles



arginine  
 $C_6H_{15}N_4O_2^+$

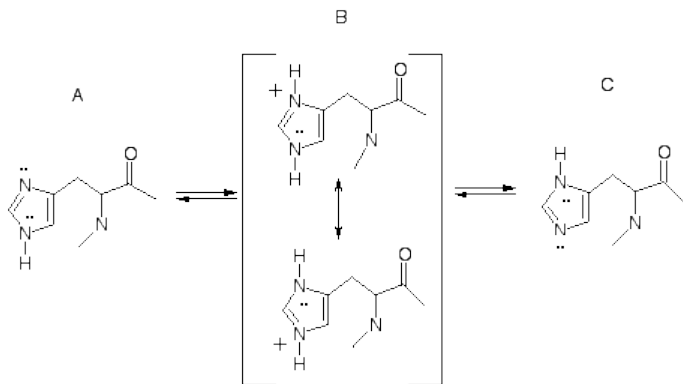


histidine



phosphate

## Histidine à pH 7 chargée positivement



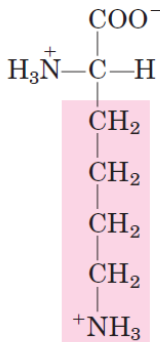
A or C: imidazole

B: imidazolium ion, resonance hybrid

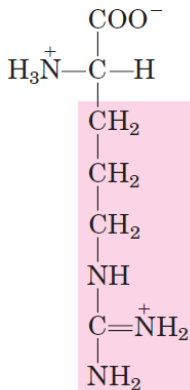
<https://spdbv.vital-it.ch/TheMolecularLevel/Goodies/Get2NoHistidine.html>

## A.A. chargés positivement

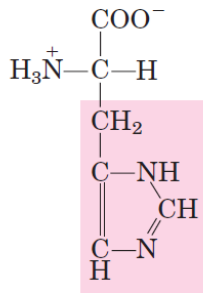
## Positively charged R groups



Lysine



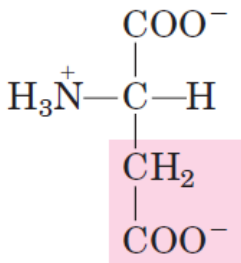
Arginine



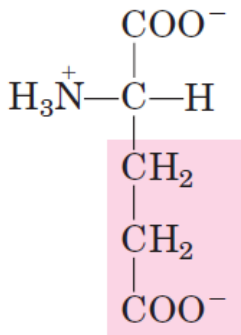
Histidine



## A.A. chargés négativement

**Negatively charged R groups**

Aspartate

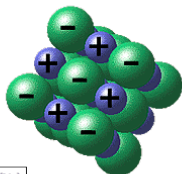


Glutamate

## Pont salin (salt bridge, ion-pairing)

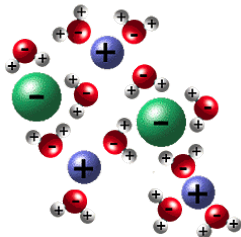
- interaction électrostatique entre deux (ou plus) résidus chargés
- peut inclure des liaisons hydrogènes, ce n'est pas un terme orthogonal à "liaison hydrogène"
- plus qu'une simple liaison hydrogène, forte interaction monopole
- ne dépend pas de la directionnalité
- atténué par l'eau qui fait écran
- pas souvent enfoui dans la protéine, malgré l'absence d'écran, car énergie libre favorable si en contact avec l'eau.

NaCl crystal structure

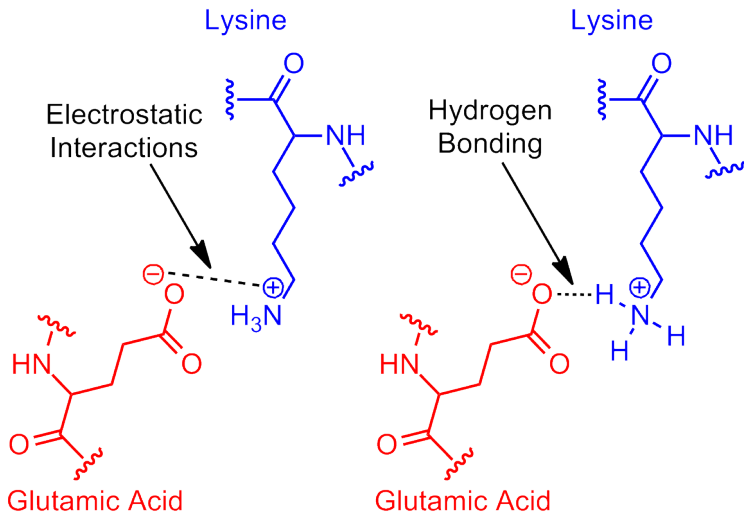


sodium (Na)  
chlorine (Cl)

NaCl in water



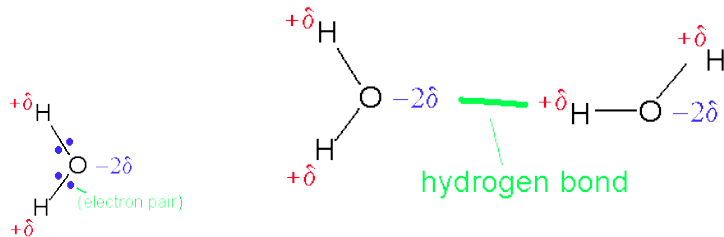
## Pont salin (salt bridge or ion-pair)

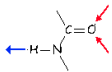


## Liaisons hydrogènes (hydrogen bonds)

Liaisons hydrogènes:

- Interaction électrostatique entre des groupements sans charge formelle
- Polarisation: Électrons sont attirés par les atomes électronégatifs (O, N et un peu aussi S), mais restent partagés à travers la liaison covalente
- Ceci crée un moment dipolaire
- => Formation d'une liaison hydrogène
- Distance entre les deux O de H<sub>2</sub>O: 2,8 Å





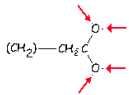
peptide



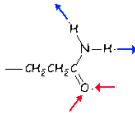
serine



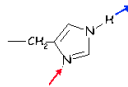
threonine



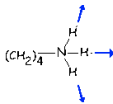
glutamic/aspartic acid



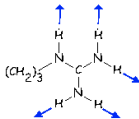
glutamine/asparagine



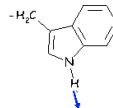
histidine



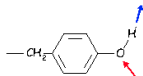
lysine



arginine



tryptophan



tyrosine

hydrogen bond donor →

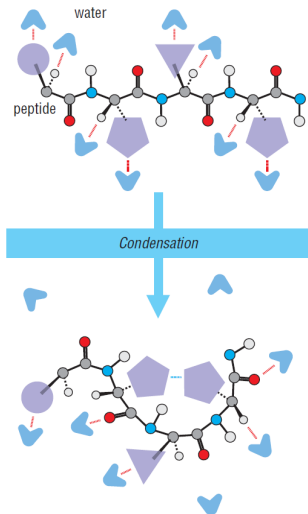
hydrogen bond acceptor ←

## Liaisons hydrogènes (hydrogen bonds)

Liaisons hydrogènes:

- Le squelette forme des liaisons hydrogènes, car il est polaire
- État dénaturée: liaisons hydrogènes avec l'eau
- État natif: liaisons hydrogènes entre les résidus => formation de structures secondaires
- Liaisons hydrogènes aussi avec des cofacteurs et des ligands

# Liaisons hydrogènes (hydrogen bonds)



## Liaisons hydrogènes (hydrogen bonds)

Liaisons hydrogènes:

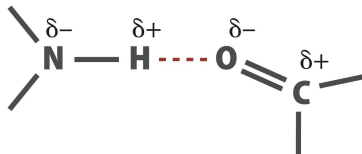


Figure 1.18 How Proteins Work (©2012 Garland Science)

- Charges partielles: N: -0.4, H: +0.2, O: -0.5, C: +0.5
- Très directionnel: Angle linéaire pour N-H...O et entre 120 et 180 pour C=O...H
- Liaison légèrement covalente, car on observe du couplage J en RMN à travers la liaison hydrogène.
- Énergie: 15-20 kJ / mol (valeur égale entre peptide-peptide et peptide-eau)



# Liaisons hydrogènes (hydrogen bonds)

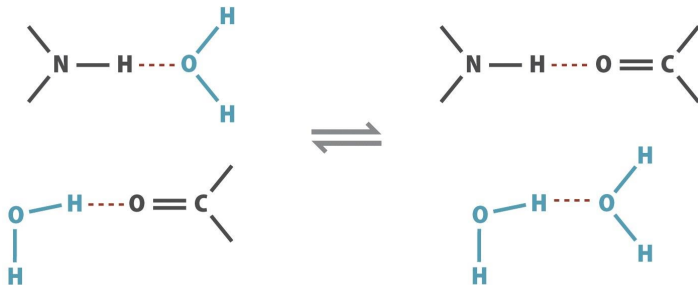
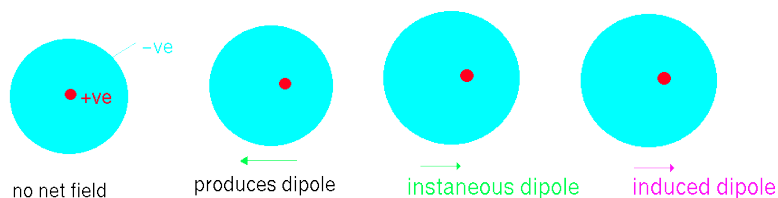


Figure 1.19 How Proteins Work (©2012 Garland Science)

## Force de dispersion ou van der Waals



- Fluctuations de la densité des électrons autour du noyau d'un atome, créent un moment dipolaire temporaire.
- Ce moment dipolaire induit à un autre atome très proche aussi un moment dipolaire transitoire
- Résultat: force attractive  $F_{disp} = -B_{ij}/r_{ij}^6$ , faible mais additive

## van der Waals - potentiel de Lennard-Jones

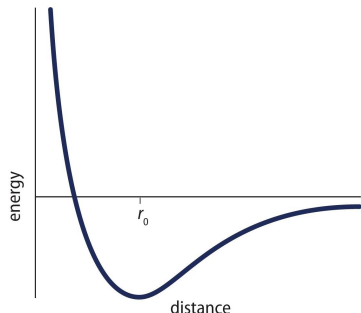


Figure 1.20 How Proteins Work ©2012 Garland Science

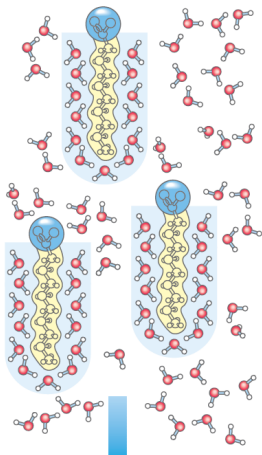
- Résultat: force attractive  $F_{disp} = -B_{ij}/r_{ij}^6$ , faible mais additive
- Répulsion (principe de Pauli):  $F_{rep} = A_{ij}/r_{ij}^{12}$
- Total:  $F_{total} = A_{ij}/r_{ij}^{12} - B_{ij}/r_{ij}^6$
- Rayons de van der Waals (minimum du potentiel  $r_0$ ):  
C (1,85Å), O (1,60Å), H (1,0Å), N (1,75Å)

# D'autres facteurs sur la stabilité des protéines

# Paramètres expérimentaux

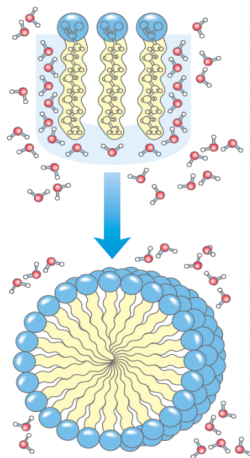
- Température : augmente énergies vibration & rotation
- Pression (modification du solvant, liaisons H rompues)
- pH (interactions électrostatiques) : dépliement  $\leq 5$  &  $\geq 10$
- Agent chimique :
  - Urée
  - TFE (2,2,2-trifluoro-ethanol,  $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ) favorise hélices
  - chlorure de guanidinium ( $\text{GuHCl}$ ) très fréquent
- Mutations peuvent modifier la cinétique

## Effet hydrophobe, ex: micelles



### Dispersion of lipids in H<sub>2</sub>O

Each lipid molecule forces surrounding H<sub>2</sub>O molecules to become highly ordered.



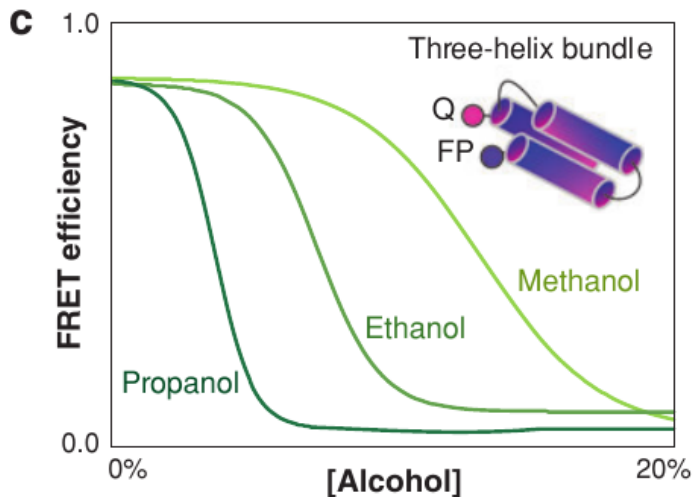
### Clusters of lipid molecules

Only lipid portions at the edge of the cluster force the ordering of water. Fewer H<sub>2</sub>O molecules are ordered, and entropy is increased.

### Micelles

All hydrophobic groups are sequestered from water; ordered shell of H<sub>2</sub>O molecules is minimized, and entropy is further increased.

## Protéine dans l'acohol



Amino Acid	Group	Engleman et al.(3)	Kyte and Doolittle (2)	Hoop and Woods (4)
Phe	Nonpolar	3.7	2.8	-2.5
Met	Nonpolar	3.4	1.9	-1.3
Ile	Nonpolar	3.1	4.5	-1.8
Leu	Nonpolar	2.8	3.8	-1.8
Val	Nonpolar	2.6	4.2	-1.5
Cys	Unch/Polar	2.0	2.5	-1.0
Trp	Nonpolar	1.9	-0.9	-3.4
Ala	Nonpolar	1.6	1.8	-0.5
Thr	Unch/Polar	1.2	-0.7	-0.4
Gly	Nonpolar	1.0	-0.4	0.0
Ser	Unch/Polar	0.6	-0.8	0.3
Pro	Nonpolar	-0.2	-1.6	0.0
Tyr	Unch/Polar	-0.7	-1.3	-2.3
His	Charged (+)	-3.0	-3.2	-0.5
Gln	Unch/Polar	-4.1	-3.5	0.2
Asn	Unch/Polar	-4.8	-3.5	0.2
Glu	Charged (-)	-8.2	-3.5	3.0
Lys	Charged (+)	-8.8	-3.9	3.0
Asp	Charged (-)	-9.2	-3.5	3.0
Arg	Charged (+)	-12.3	-4.5	3.0



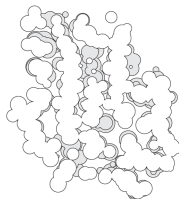
## Accessible and buried surface area (ASA, BSA)

Effet hydrophobe => maximiser la surface enfouie

- Chaque  $\text{Å}^2$  de surface enfouie contribue à peu près à 6 J/mol pour  $\Delta G$ .
- Formation d'oligomères: 1000 à 5000  $\text{Å}^2$
- Très défavorable d'enfouir des chaînes latérales chargées, car elles forment déjà des liaisons très favorables avec l'eau.
- On peut avoir des surfaces hydrophobes => sites de liaisons protéine-protéine

## Facteurs qui stabilisent l'état natif

Compactification:



- Améliore les forces attractives de van der Waals

# Cooperativité

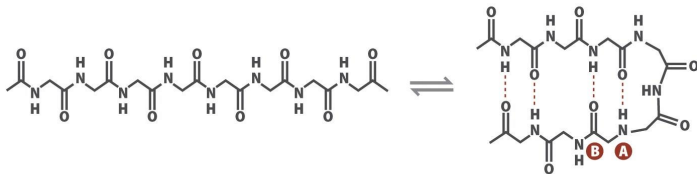


Figure 1.25 How Proteins Work (©2012 Garland Science)

## Coopérativité

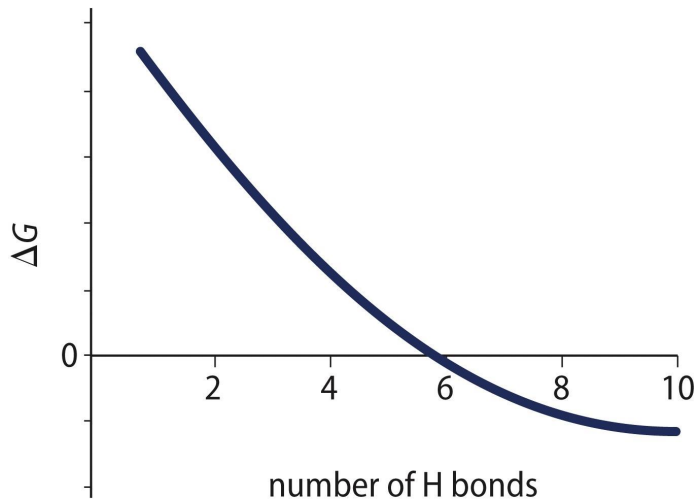
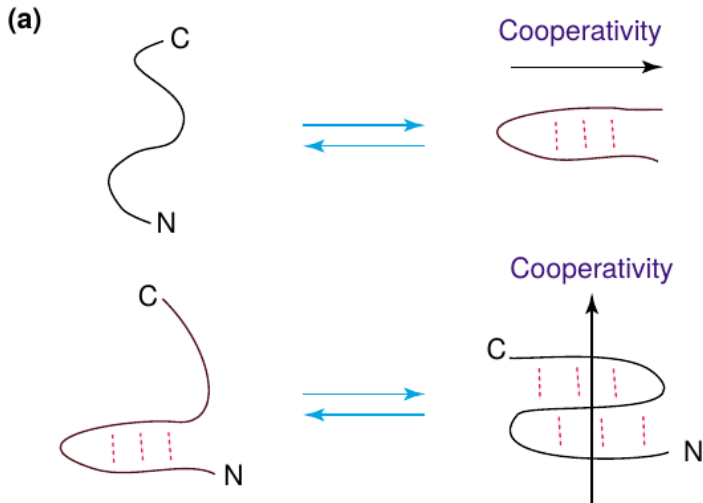
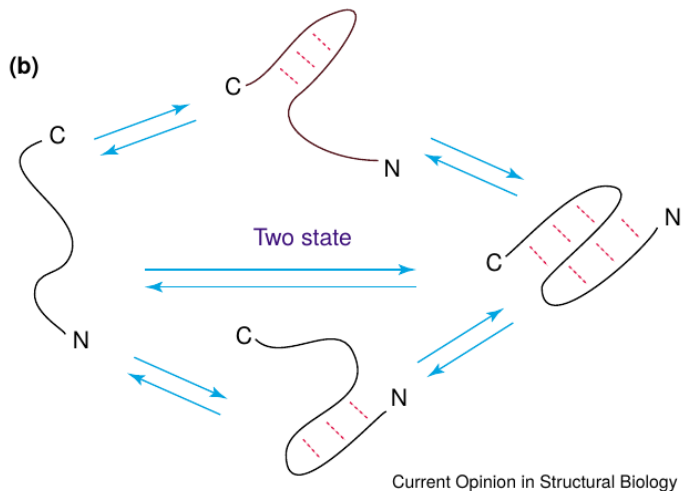


Figure 1.26 How Proteins Work (©2012 Garland Science)

# Cooperativité



## Two or four state model ?



## Compensation Enthalpie / Entropie

(a)



(b)

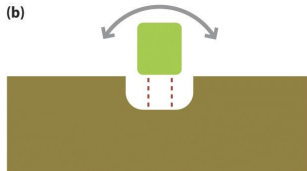


Figure 1.29 How Proteins Work (©2012 Garland Science)

## Compensation Enthalpie / Entropie

Plusieurs facteurs possibles:

- solvant (eau)
- mobilité protéine et ligand
- protéine dénaturée = système non-corrélé avec beaucoup de degrés de liberté
- protéine native = système hautement corrélé avec peu de degrés de liberté

Difficile de savoir d'avance qui domine dans un cas concret.



## Compensation Enthalpie / Entropie

Redistribution des forces de liaison (+uniforme, +mobile => +Entropie):

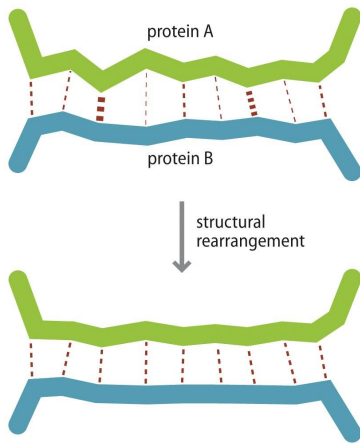
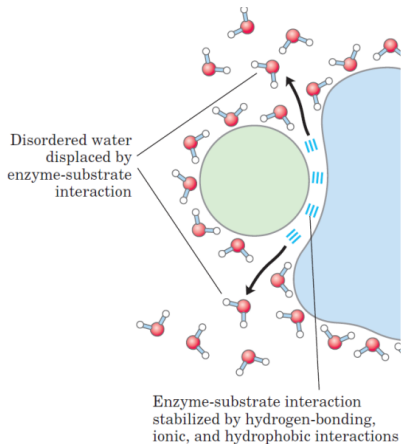
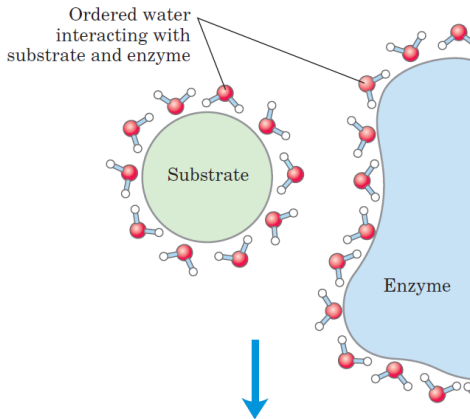


Figure 1.30 How Proteins Work (©2012 Garland Science)

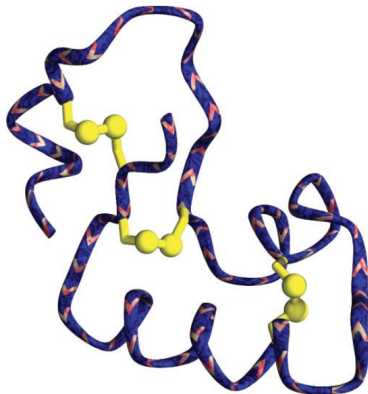
# Désolvatation

Désolvatation:



## Facteurs qui stabilisent l'état natif

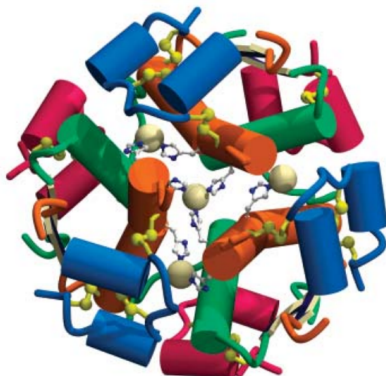
Liaisons covalentes: ponts di-sulfures, exemple Crambin (1CRN):



**Figure 2.5** Crambin [1CRN]. The yellow double-lollypops are disulphide bridges.

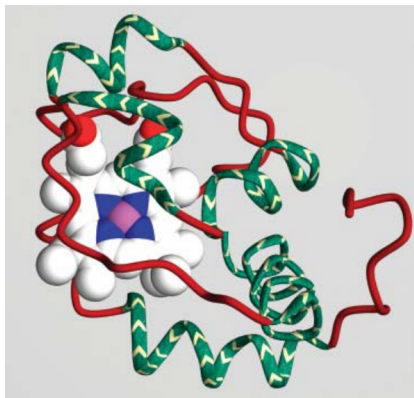
## Facteurs qui stabilisent l'état natif

Ponts di-sulfures et ions métalliques, exemple insuline hexamer avec 4 zinc (4ZNI):



## Facteurs qui stabilisent l'état natif

Ions métalliques dans un ligand, exemple cytochrome c (1CCR):



# Énergie libre de l'état natif

# Enthalpie $H$

- $H = U + pV$ ,  $U$  énergie interne du système
- Exemple: chauffer un gaz depuis  $T=0$ , avec pression constante autour:
  - Augmenter  $U$  du gaz
  - Fournir l'énergie  $pV$  en plus pour l'expansion du gaz contre la pression extérieure
- Physique => on n'utilise souvent que  $U$
- Chimie => on utilise  $H$ , car expériences sous pression atmosphérique constante
- $\Delta H$  *chaleur de réaction*
- $\Delta H < 0$  exothermique,  $\Delta H > 0$  endothermique

## Entropie S -&gt; Énergie libre G

- Séparer le changement d'entropie en deux parties (système et externe):

$$\Delta S_{total} = \Delta S_{ext} + \Delta S_{sys}$$

- $\Delta H < 0$  exothermique => plus de désordre à l'extérieur
- $\Delta S_{ext} = \frac{-\Delta H}{T} > 0$
- Processus spontané si:

$$\Delta S_{ext} + \Delta S_{sys} = \frac{-\Delta H}{T} + \Delta S_{sys} > 0$$



## Entropie S -&gt; Énergie libre G

- Définition:

$$\Delta S_{total} = \frac{-\Delta G}{T}$$

- Conséquence:

$$\frac{-\Delta G}{T} = \frac{-\Delta H}{T} + \Delta S_{sys}$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S_{sys}$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

- Pourquoi avoir introduit G ?

- Processus spontané si  $\Delta G < 0$ , en analogie à  $\Delta H < 0$  (exothermique)
- Unité de G: énergie de 1 mol ( $6.02 * 10^{23}$ ) de particules
- Unité SI de G: kJ/mol, on trouve aussi kcal/mol, avec  $1\text{kJ/mol} = 0.239 \text{ kcal/mol}$
- Pour  $T=25 \text{ C}$  on a aussi  $1 \text{ kJ/mol} = 0.4 k_B T$

## Énergie libre et repliement des protéines

- Stabilité d'une protéine, mesurée par:  $\Delta G = G(\text{Native}) - G(\text{Dénaturée})$
- Valeurs typiques pour  $T = 298 \text{ K}$ : entre -20 à -60 kJ/mol
- Correspond à 2-3 liaisons hydrogènes seulement !
- $\Delta G$  relativement petit par rapport aux valeurs de  $\Delta H$  et  $T\Delta S$ .
- Grande perte d'entropie, car plus de degré de liberté en forme dénaturée
- Compensée par la formation des liaisons intra-chaîne et l'effet hydrophobe

## Énergie libre et repliement des protéines

**Table 8.2** Thermodynamics of protein folding at 298 K

Protein	$\Delta G^\circ$ (kJ mol <sup>-1</sup> )	$\Delta H^\circ$ (kJ mol <sup>-1</sup> )	$T\Delta S^\circ$ (kJ mol <sup>-1</sup> )
CI2	-27.7	-135	-107.3
Eglin c	-36.9	-115	-78.1
RNase T1	-37.5	-281	-243.6
Cytochrome c	-37.1	-89	-51.9
Barnase	-48.9	-307	-258.2
Lysozyme	-57.8	-242	-184.3
Chymotrypsin	-45.7	-268	-222.4
Tendamistat	-37.5	-70	-32.5

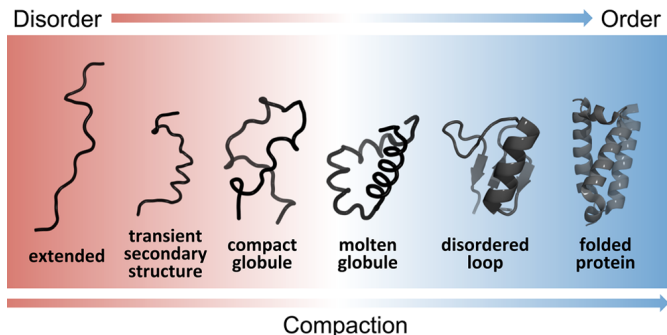
From: Makhatadze, G.I. and Privalov, P.L. (1995). Energetics of protein structure. *Adv. Prot. Chem.*, **47**, 307-425.

### 3 Processus du repliement

- Processus du repliement
- Réaction à deux états
- État déplié
- Mutations et  $\Delta\Delta G$

# Processus du repliement

# Repliement



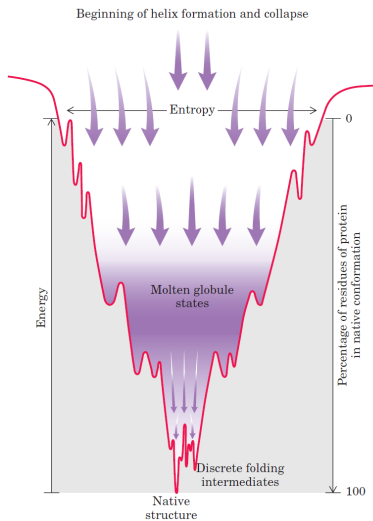
- Molten globule: interactions hydrophobes
- Structure 3D finale: liaisons hydrogènes

## Pourquoi est le repliement des protéines si rapide ?

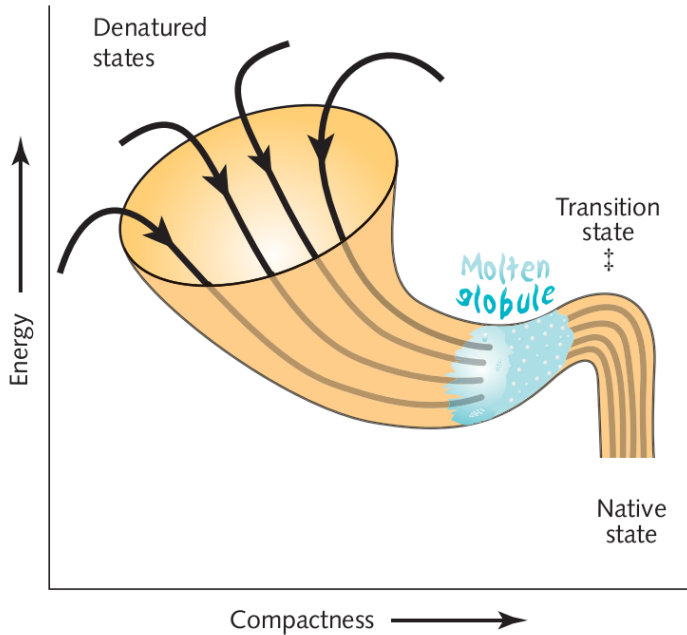
Paradoxe de Levinthal (1968):

- chaque résidu n'a que deux possibilité de conformation
- une protéine de 100 résidu aurait  $2^{100} \approx 10^{30}$  conformations possibles.
- Conclusion: une protéine ne peut pas se replier par une recherche au hasard de la conformation native
- Elle doit suivre un chemin de repliement (*folding pathway*) plus efficace.

# Entonnoir du repliement







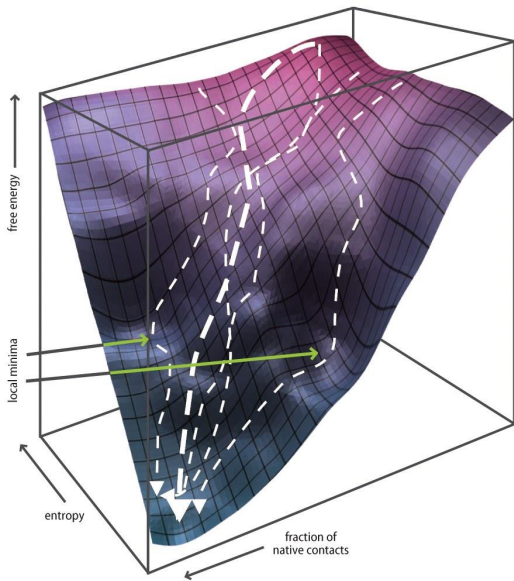
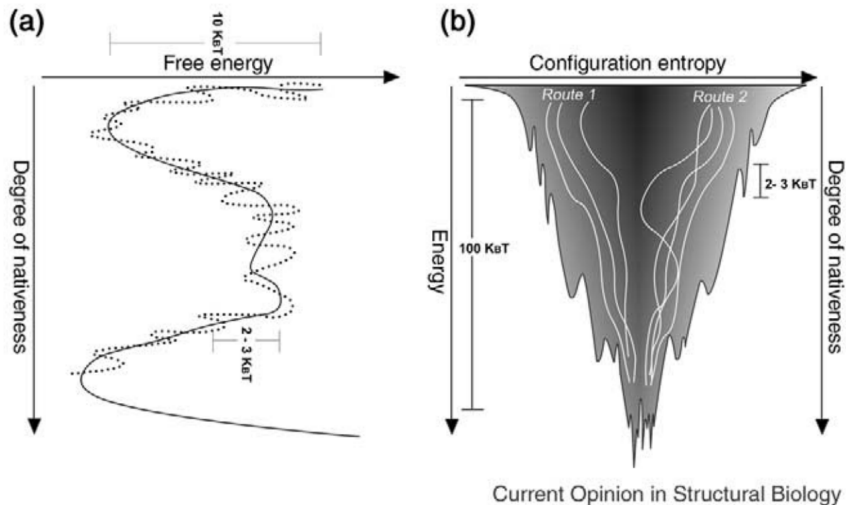
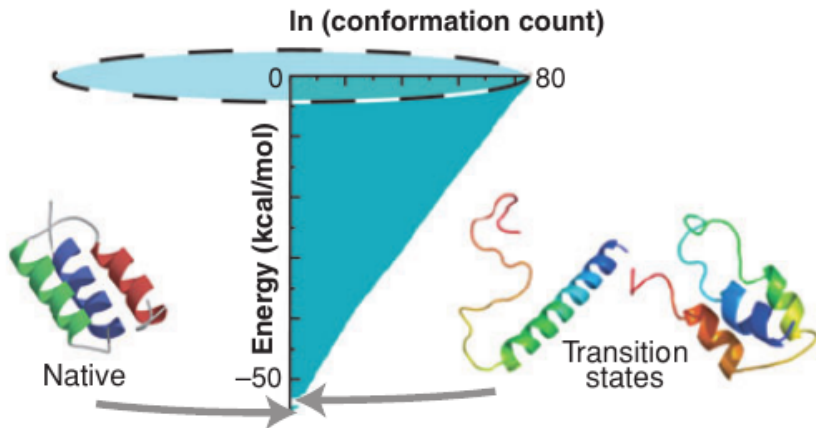


Figure 6.15 How Proteins Work (©2012 Garland Science)

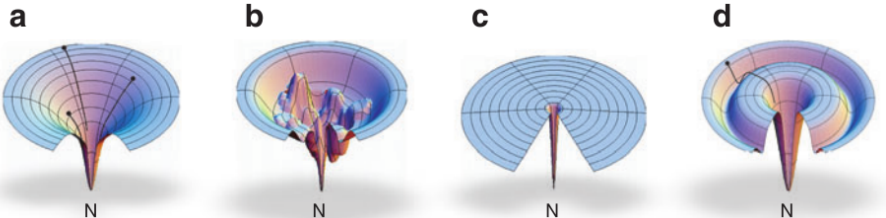
## Entonnoir du repliement



# Entonnoir du repliement



# Entonnoir du repliement



a: fast folder

b: kinetic traps

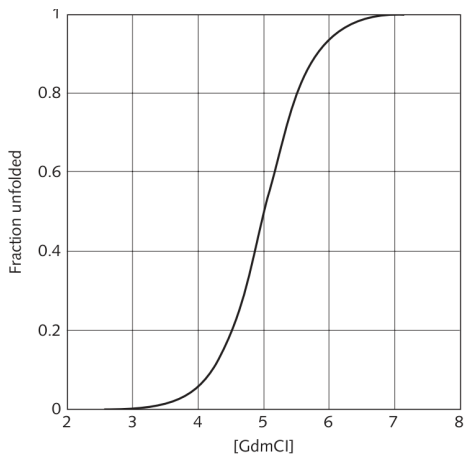
c: diffusional conformational search

d: obligatory intermediate

Ken A. Dill et al. (2008). en. In: *Annual Review of Biophysics* 37.1

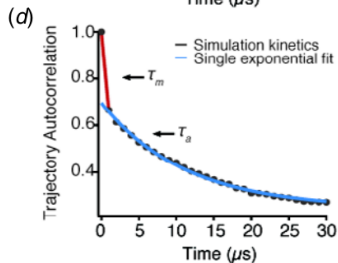
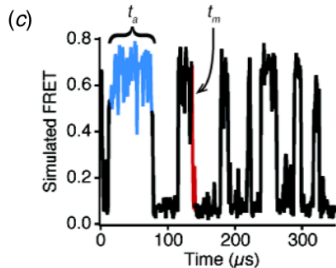
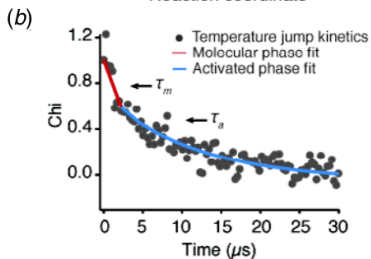
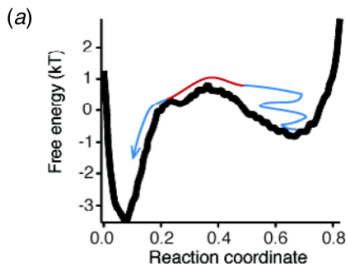
# Réaction à deux états

# Cinétique d'une transition entre deux états



- Dénaturation (*Unfolding*)
- Transition rapide entre native et dénaturée
- => Pas d'état intermédiaire stable

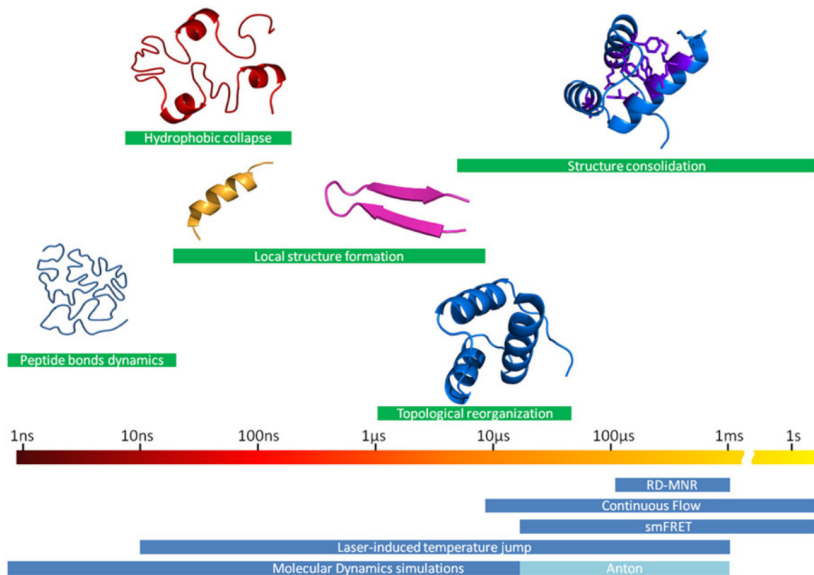
# Cinétique d'une transition entre deux états





# Vitesses du repliement

- Hélices se forment plus rapidement que des feuillet
- Hélices  $\Leftrightarrow$  contacts proches dans la séquence
- Feuillet  $\Leftrightarrow$  contacts distants dans la séquence
- Hélices:  $0.1 - 1 \mu s$ ,  $\beta$ -hairpins:  $1 - 10 \mu s$
- La vitesse 'limite' du repliement:  $N/50 \mu s$ , N: nombre de résidus



# Étapes typiques du repliement

- 1 Compactification rapide et formation de structures 2D:  $m_s$ 
  - Formation du *Molten globule* avec  $R_G + 10\%$  de sa valeur native
  - Analogie: liquide  $+10\%$  du volume du solide (exception: eau)
- 2 Formation de la structure tertiaire:  $m_s - s$ 
  - Chaines latérales enfouies sont encore mobiles
- 3 "Cristallisation" finale à l'état natif:  $\leq s$ 
  - Expulsion de l'eau de l'intérieur
  - Imbrication et stabilisation des chaines latérales enfouies

# Molten globule

- état intermédiaire du repliement
- compact, mais pas aussi compact qu'en native: +10% en  $R_G$
- structures 2D proche natives
- topologie correct, mais pas la structure tertiaire
- RMN: Les protons NH ne sont pas encore protégés de l'échange avec le deutérium.
- Plus de flexibilité structural, conversion rapide entre plusieurs conformations.

État déplié

## Rayon de giration

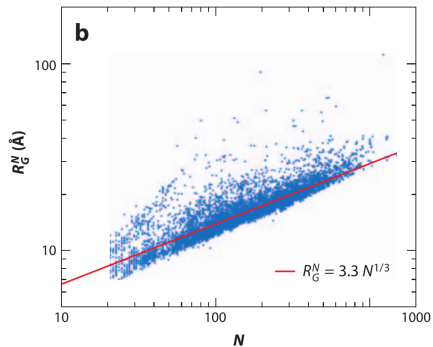
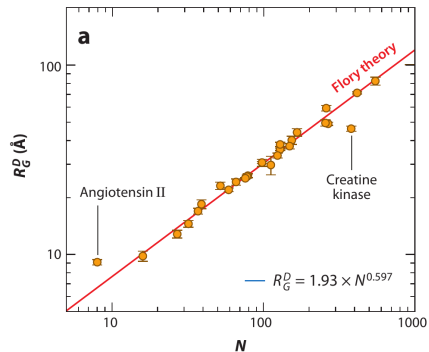
Protein	Number of residues	$R_G$ (native)	$R_G$ (denatured)	Ratio
PI3 kinase, SH3 domain	90	18.6	27.5	0.7
Horse heart cytochrome c	104	17.8	32.6	0.5
Hen egg white lysozyme	129	20.5	34.6	0.6
Yeast triose phosphate isomerase	247	29.7	49.7	0.6

- Si centre de gravité à l'origine, alors:

$$R_G = \sqrt{\frac{\sum_i m_i (x_i^2 + y_i^2 + z_i^2)}{\sum_i m_i}}$$

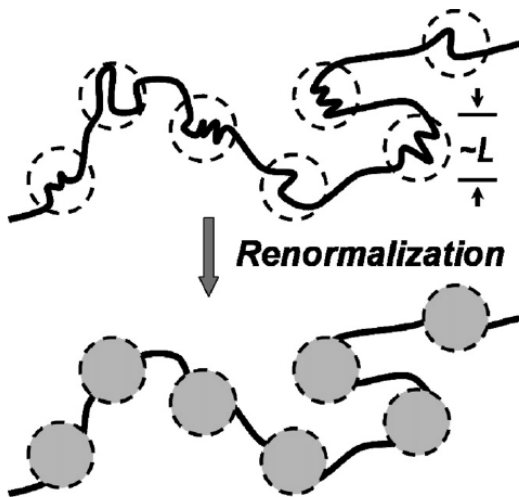
- Random coil:  $R_G \propto N^{0.6}$  avec N nombre de résidus
- Globule compacte:  $R_G \propto N^{0.33}$

## Rayon de giration



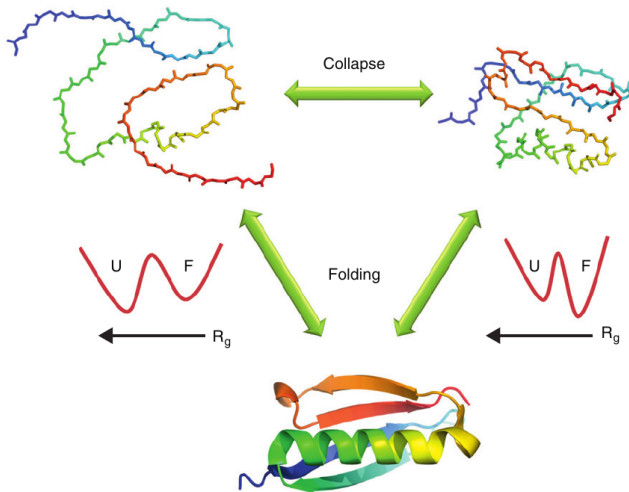
D. Thirumalai et al. (2010). In: *Annual Review of Biophysics* 39.1

# Protéine dépliée = polymer sans interaction



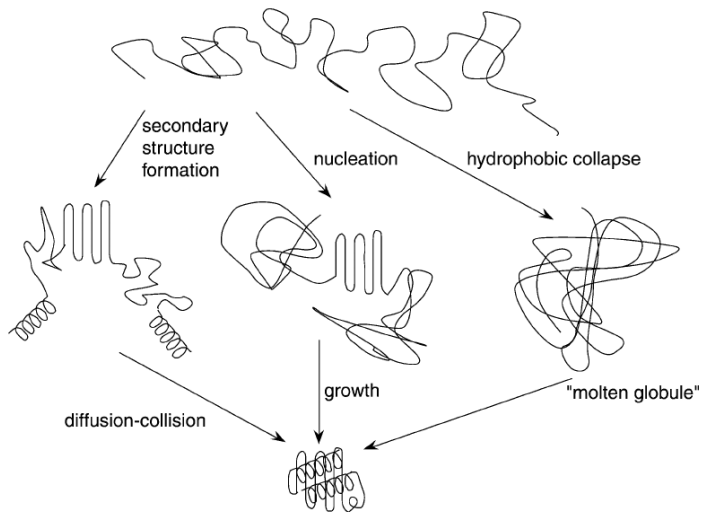


## Collapse et perte d'entropie



Current Opinion in Structural Biology

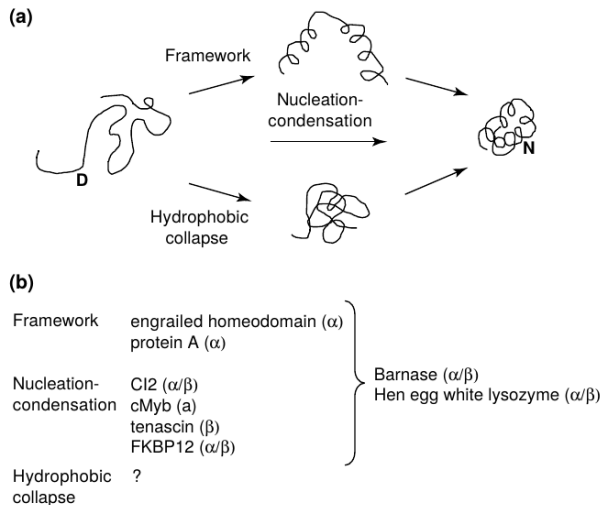
# Modèles classiques pour le repliement



à gauche: "framework" ou "hierarchical",

Alan R. Fersht and Valerie Daggett (2002). In: *Cell*

## Modèles classiques pour le repliement



# Questions ouvertes sur le collapse/repliement

- 1 Qu'est-ce qui cause le collapse ?
  - 1 Interactions chaînes latérales (hydrophobes) OU
  - 2 Interactions squelette (liaisons hydrogènes)
- 2 Collapse graduel ou limité par une barrière (énergétique)
- 3 Relation entre collapse et formation structures secondaires
- 4 Relation entre collapse et cœur hydrophobe
- 5 Accélère ou retarde le collapse la formation de la structure native
- 6 Résultat du collapse: globule hétérogène sans structure spécifique OU molten globule avec structure spécifique et un repliement "native-like" ?

Jayant B. Udgaonkar (2013). In: *Archives of Biochemistry and Biophysics*. Protein Folding and Stability 531.1–2

# État déplié

- Obtenu avec des conditions dénaturantes:
  - Solvant dénaturant (Urea)
  - pH ou température extrême
  - haute pression
- Protéine dépliée se contracte lors de la diminution de la concentration de l'agent dénaturant dans la zone dénaturante.
- Ceci dépend de la nature chimique du dénaturant => indication pour une absence d'une structure spécifique de la protéine dépliée.
- Démonstré par des expériences sur molécule unique.

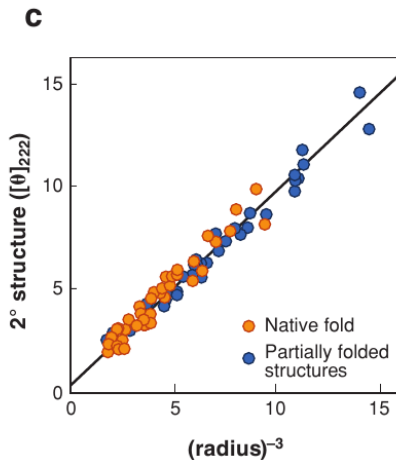
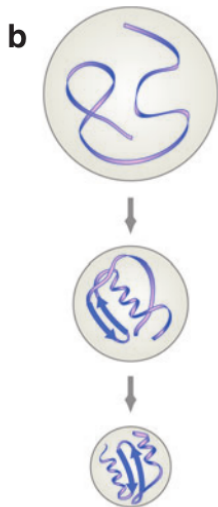
Jayant B. Udgaonkar (2013). In: *Archives of Biochemistry and Biophysics*. Protein Folding and Stability 531.1–2

## État déplié sous conditions de repliement

- Etudes d'équilibre: état effondré (collapse) sans structure spécifique "structure-less globule"
- Ressemble à des protéines intrinsèquement dépliées (IUP). Leur taille augmente aussi en ajoutant du dénaturant
- Déshydratation partielle des résidus hydrophobes compense la perte d'entropie conformationnelle (probable)

Jayant B. Udgaonkar (2013). In: *Archives of Biochemistry and Biophysics*. Protein Folding and Stability 531.1–2

## Collapse et formation structure secondaire



# Mutations et $\Delta\Delta G$



# Mutations et stabilité d'une protéine

- Mutations résidus par résidus
- But: obtenir l'importance d'un résidu pour la stabilité
- On a souvent quelques résidus qui sont très importants pour la stabilité
- Environ 1/3 des résidus sont assez importants pour la stabilité, sans être individuellement indispensables
- Bonne corrélation avec les résidus conservés lors d'un alignement multiple de séquences
- Différence de stabilité:

$$\Delta\Delta G = \Delta G_{D \rightarrow N}(\text{wildtype}) - \Delta G_{D \rightarrow N}(\text{mutant})$$

Protein	$\Delta T_m$ (°C)	$\Delta\Delta G^\ddagger$ (kJ mol <sup>-1</sup> )	Crystal structure?
WT	0.0	0.0	Yes
Arg96Lys	-0.2	0.0	Yes
Arg96Gln	-1.4	-1.3	Yes
Arg96Ala	-5.1	-8.4	Yes
Arg96Val	-6.4	-10.0	Yes
Arg96Ser	-7.0	-10.9	Yes
Arg96Glu	-7.0	-10.5	Yes
Arg96Gly	-7.1	-10.9	Yes
Arg96Met	-7.1	-11.3	Yes
Arg96Thr	-7.6	-11.7	No
Arg96Cys	-7.7	-12.1	No
Arg96Ile	-7.9	-12.1	No
Arg96Asn	-8.0	-12.6	Yes
Arg96His	-8.3	-13.0	Yes
Arg96Leu	-8.6	-13.4	No
Arg96Asp	-9.5	-14.6	Yes
Arg96Phe	-11.5	-17.6	No
Arg96Trp	-12.8	-18.8	Yes
Arg96Tyr	-13.2	-19.7	Yes
Arg96Pro	-15.5	-23.0	Yes

- Arg96 est dans une hélice => Pro déstabilise le plus
- L'enfouissement de groupement polaire sans liaisons hydrogènes => très déstabilisant
- Arg => Gly ou Ala, peu d'effet déstabilisant malgré un volume beaucoup plus petit

## Mutations et état de transition

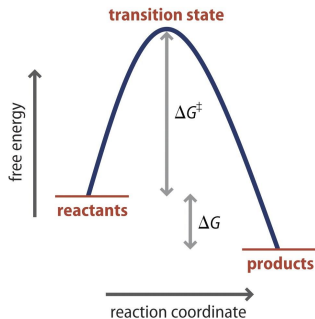


Figure S.1 How Proteins Work (©2012 Garland Science)

- $\Delta G^\ddagger$  "delta G double dagger": énergie d'activation
- équilibre côté produits ici, car  $\Delta G < 0$
- l'état de transition (transition state (TS)) très instable avec durée de vie de l'ordre de  $10^{-12}$

# Etat initial

- Initial = random coil ; sans interaction à longue distance persistante ; conformations dominantes = étendues
- Difficile à obtenir expérimentalement sans agent chimique dénaturant (urée, chlorure de guanidinium)
- Dans une transition à deux états (two state kinetic folding), (D déplié & N natif)

## Mutations et état de transition

catalyzed reaction

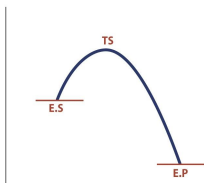
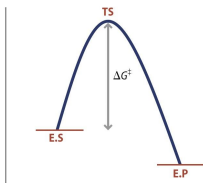


Figure 5.6 How Proteins Work (©2012 Garland Science)

uncatalyzed reaction



- Enzymes (=protéines qui catalysent) réduisent l'énergie d'activation par deux moyens:
- 1) Augmentent l'énergie libre des substrats
- 2) Réduisent l'énergie libre de l'état de transition

## Mutations et état de transition

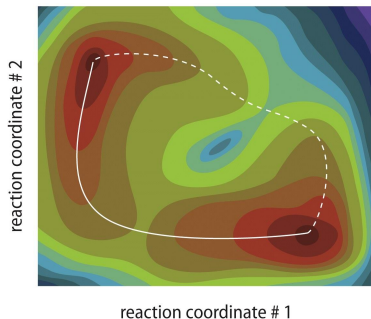
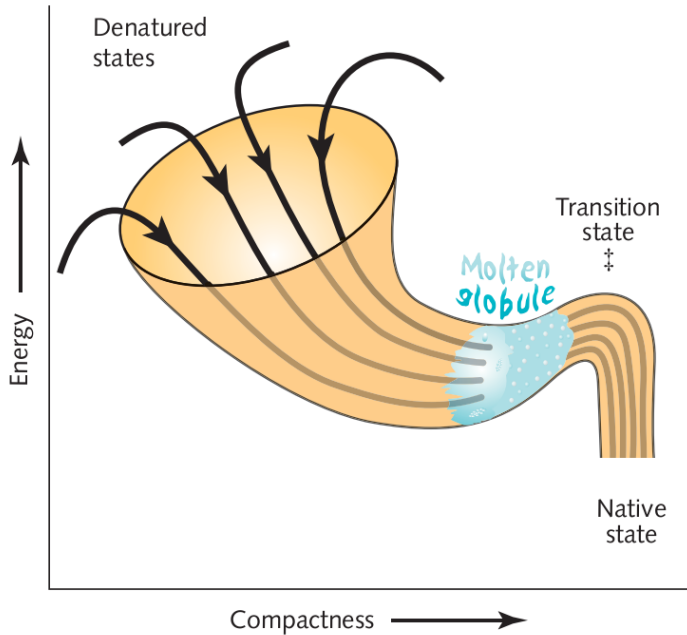


Figure 5.2 How Proteins Work (©2012 Garland Science)

- Rouge: énergie faible.
- Trait continu: chemin de transition préférentiel
- Trait discontinu: chemin de transition alternative avec peu de différence énergétique



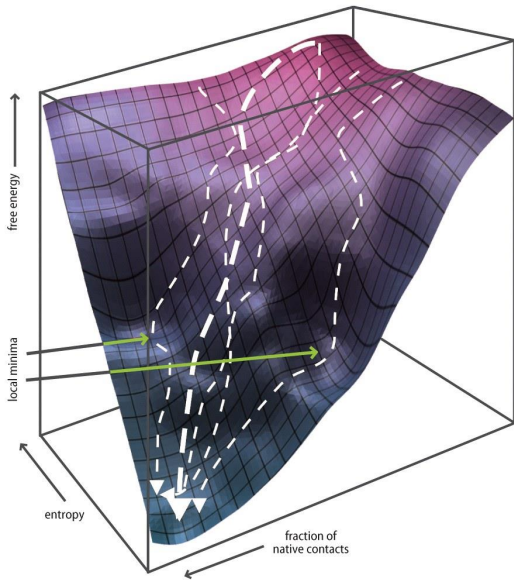


Figure 6.15 How Proteins Work (©2012 Garland Science)



## Mutations et état de transition

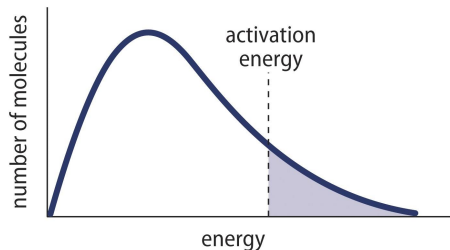


Figure 5.2.1 How Proteins Work (©2012 Garland Science)

- Distribution de Boltzmann
- Vitesse de réaction  
 $k = Ae^{-E_a/RT}$  (équation d'Arrhenius)
- $E_a = \Delta G^\ddagger$ : énergie d'activation

## Mutations et état de transition

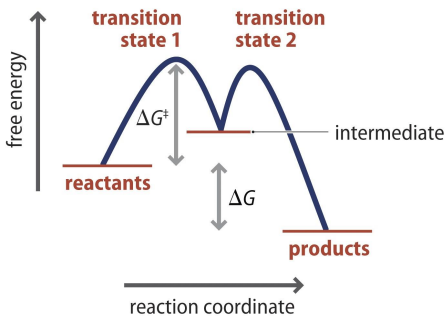


Figure 5.3 How Proteins Work (©2012 Garland Science)

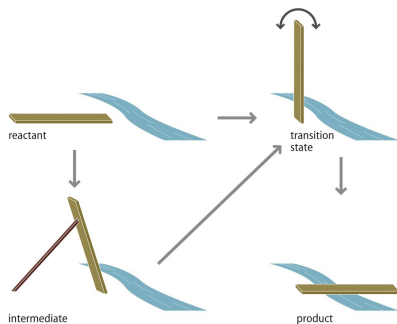


Figure 5.4 How Proteins Work (©2012 Garland Science)

# Etats Intermédiaires

- Correspond à un **minimum** local d'énergie. Observables
- Ensemble de structures d'énergies similaires. On a **parfois** défini ces états sous le terme de molten globule (globule fondu) :
  - quelques SSE déjà formés
  - compacité moindre que la forme native.
  - les chaînes latérales sont mal positionnées
- Plupart petites protéines se replient en 2 états. Contre exemples : cytochrome c, ubiquitine, Im7. La plupart des protéines > 100 résidus → intermédiaires très tôt
- EI peuvent ralentir ou augmenter vitesse de repliement

# Mutations et état de transition

- l'état de transition (transition state (TS)) très instable avec durée de vie de l'ordre de  $10^{-12}$
- Inaccessible avec les méthodes expérimentales
- La cinétique du repliement de protéines mutés donne des informations sur la structure de l'état de transition du repliement
- Exemple: énergie d'activation:

$$\Delta G_{folding}^{\ddagger} = G(TS) - G(D)$$

- taux/vitesse du repliement:

$$k_{folding} = \exp[-\Delta G_{folding}/(RT)]$$

- Différences entre wild type et mutant:

$$\Delta\Delta G_{folding}^{\ddagger} = -RT \ln k_{folding}^{wt} / k_{folding}^{mut}$$

# Mutations et état de transition

Mutation d'un seul résidu, exemple (a):

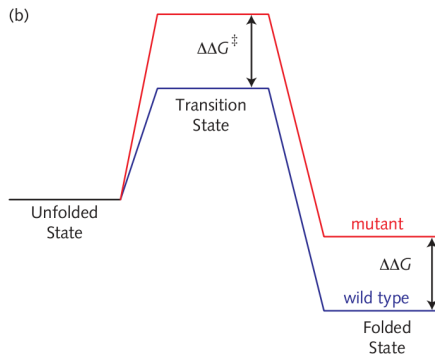
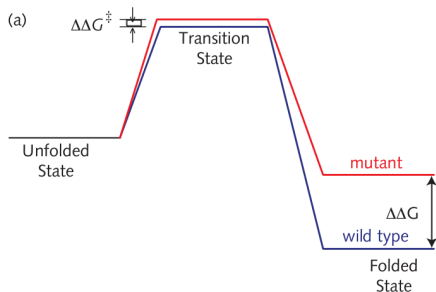
- ici, résidu en question n'a pas d'interaction intramoléculaire dans l'état dénaturé (D)
- ici, mutation a un effet déstabilisant sur l'état natif (N)
- ici, résidu en question n'a aussi pas d'interaction intramoléculaire dans l'état de transition (TS)
- Conséquences:
  - 1 L'énergie d'activation pour le repliement ne change pas:

$$\Delta G_{folding}^{\ddagger} = G(TS) - G(D)$$

- 2 L'énergie d'activation pour le dépliement sera plus bas pour le mutant:

$$\Delta G_{unfolding}^{\ddagger} = G(TS) - G(N)$$

## Mutations et état de transition



# Mutations et état de transition

Mutation d'un seul résidu, exemple (b):

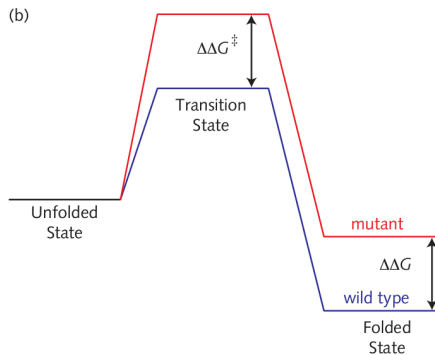
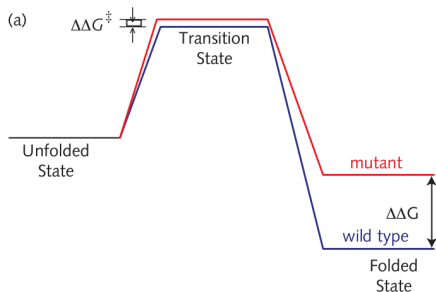
- ici, résidu en question n'a pas d'interaction intramoléculaire dans l'état dénaturé (D)
- ici, mutation a un effet déstabilisant sur l'état natif (N)
- ici, mutation a aussi un effet déstabilisant sur l'état de transition (TS), **car interaction intramoléculaire en TS est altérée**
- Conséquences:
  - 1 L'énergie d'activation pour le repliement sera plus grand pour le mutant:

$$\Delta G_{folding}^{\ddagger} = G(TS) - G(D)$$

- 2 L'énergie d'activation pour le dépliement ne change pas:

$$\Delta G_{unfolding}^{\ddagger} = G(TS) - G(N)$$

## Mutations et état de transition





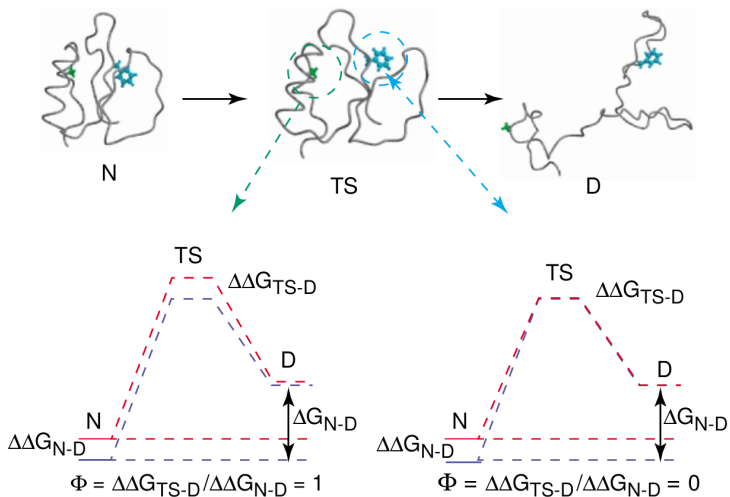
## Mutations et état de transition

- En général on se trouve entre ces deux extrêmes.
- Quantification,  $\Phi$  de Alan Fersht:

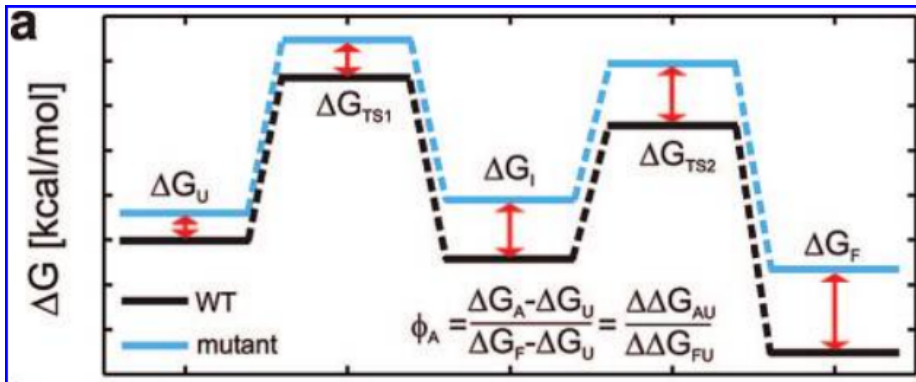
$$\Phi = \frac{\Delta G^\ddagger(\textit{wildtype}) - \Delta G^\ddagger(\textit{mutant})}{\Delta G_{N \rightarrow D}(\textit{wildtype}) - \Delta G_{N \rightarrow D}(\textit{mutant})} = \frac{\Delta\Delta G^\ddagger}{\Delta\Delta G_{N \rightarrow D}}$$

- Mesure à quel point un résidu fait des contacts similaire à l'état natif dans le TS.
- Exemple (a)  $\Rightarrow \Phi = 0$ , Exemple (b)  $\Rightarrow \Phi = 1$
- Mesures expérimentales:
  - $\Delta G_{N \rightarrow D}$ : mesures d'équilibre ou cinétique
  - $\Delta\Delta G^\ddagger$ : cinétiques de repliement et dépliement.

## Phi-value analysis



## Exemple d'analyse des valeurs phi



Domaine Fyn SH3

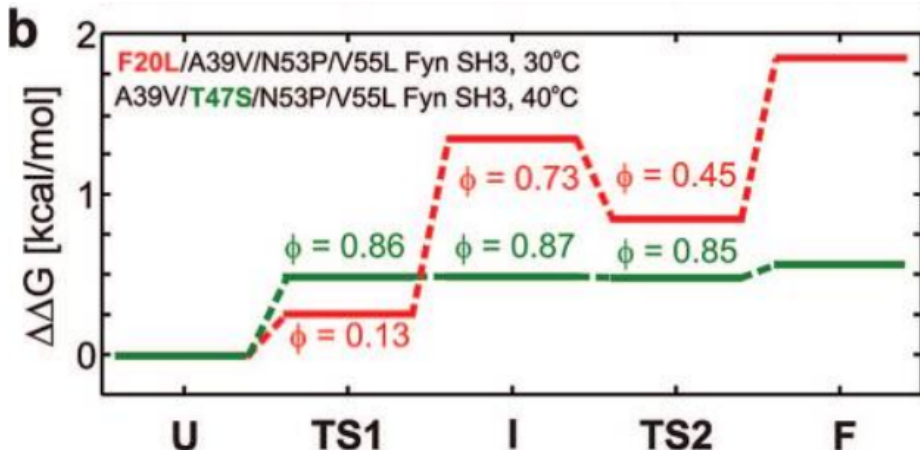
Chemin de repliement à trois états:  $U \leftrightarrow I \leftrightarrow F$

$\Delta G_A$ : A = F, TS1, I, TS2 ou F

Valeurs  $\Delta\Delta G$  obtenues par RMN

Dmitry M. Korzhnev and Lewis E. Kay (2008). In: *Acc. Chem. Res.* 41.3

## Exemple d'analyse des valeurs phi



T47: à la surface, F20: dans le coeur hydrophobe

T47:  $\phi \approx 1 \Rightarrow$  formation de contact natifs très tôt

F20: I: état compact avec interactions non-natives

F20: TS2: ces interactions doivent être rompues avant l'état F

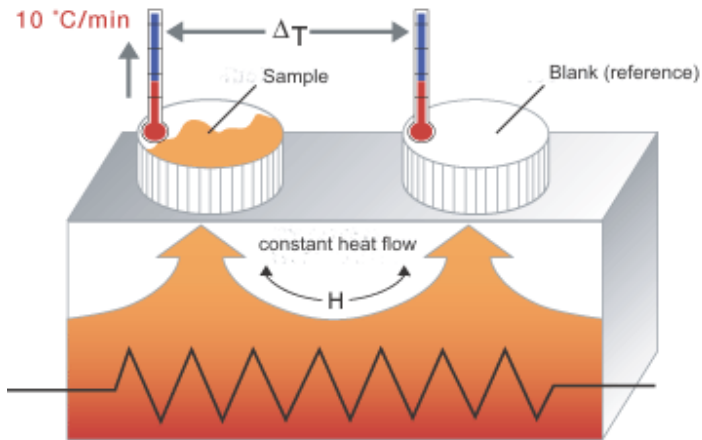
Dmitry M. Korzhnev and Lewis E. Kay (2008). In: *Acc. Chem. Res.* 41.3

#### 4 Techniques expérimentales

- Méthodes thermodynamiques
- Techniques sur molécule unique
- RMN
- Méthodes pour cinétique "ultra rapide"

# Méthodes thermodynamiques

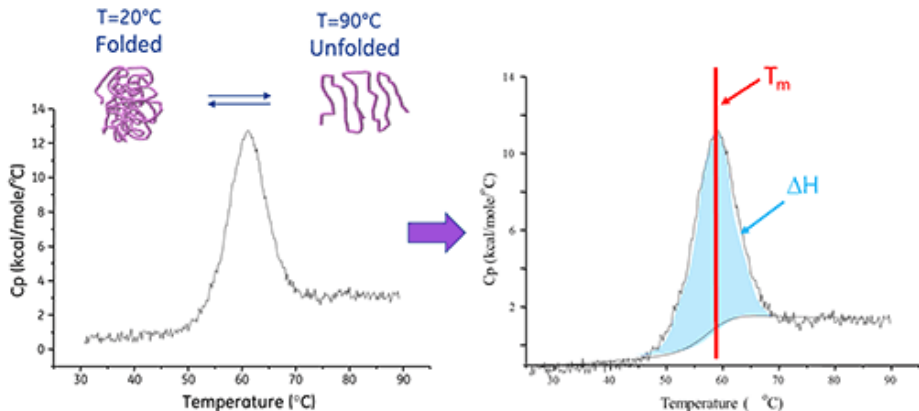
# Differential scanning calorimetry (DSC)



Principe: référence et échantillon sont chauffés simultanément  
Protéine absorbe de la chaleur lors du dépliement =>  $\Delta T$

[www.itc.tu-bs.de/Abteilungen/Makro/Methods/dsc.htm](http://www.itc.tu-bs.de/Abteilungen/Makro/Methods/dsc.htm)

## Differential scanning calorimetry (DSC)



$T_m$ : température médiane de transition thermique (thermal transition midpoint)

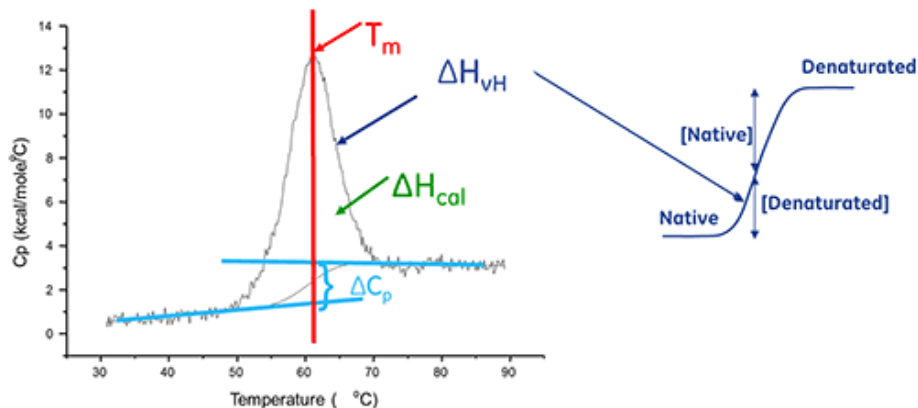
$C_p$ : capacité calorifique (heat capacity)

H: enthalpie

[www.malvern.com/fr/products/technology/differential-scanning-calorimetry](http://www.malvern.com/fr/products/technology/differential-scanning-calorimetry)



## Differential scanning calorimetry (DSC)



$T_m$ : température médiane de transition thermique (thermal transition midpoint)

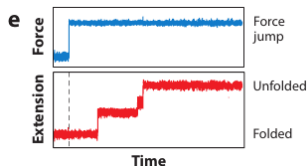
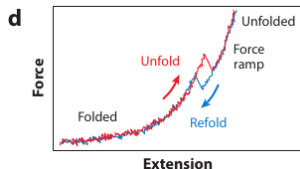
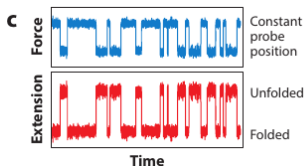
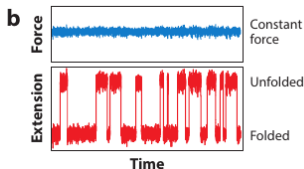
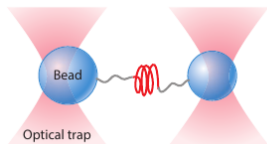
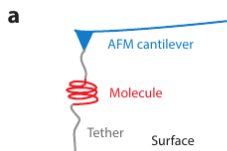
$C_p$ : capacité calorifique (heat capacity)

H: enthalpie

[www.malvern.com/fr/products/technology/differential-scanning-calorimetry](http://www.malvern.com/fr/products/technology/differential-scanning-calorimetry)

# Techniques sur molécule unique

# Single molecule force spectroscopy (SMFS)



a) Atomic force microscopy (AFM) and Optical tweezers

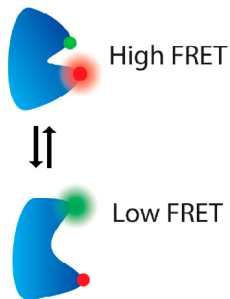
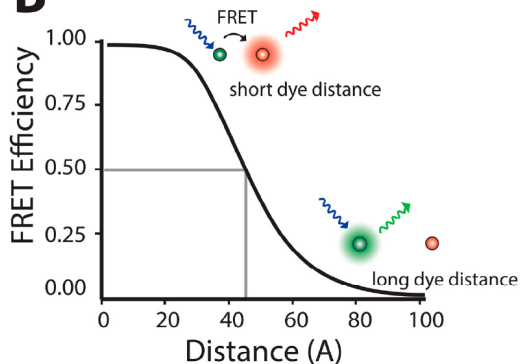
b) Constant force mode: extension fluctuates

c) Constant probe position: force and extension fluctuate

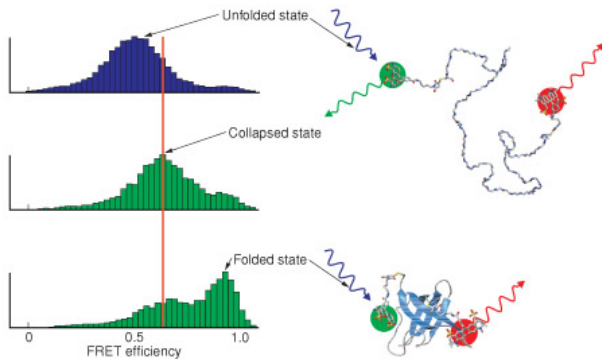
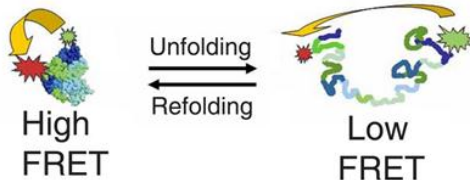
d) Force-ramp mode: elastic stretching is interrupted by a "rip", hysteresis indicates a nonequilibrium process

e) Force-jump mode: extension changes in steps

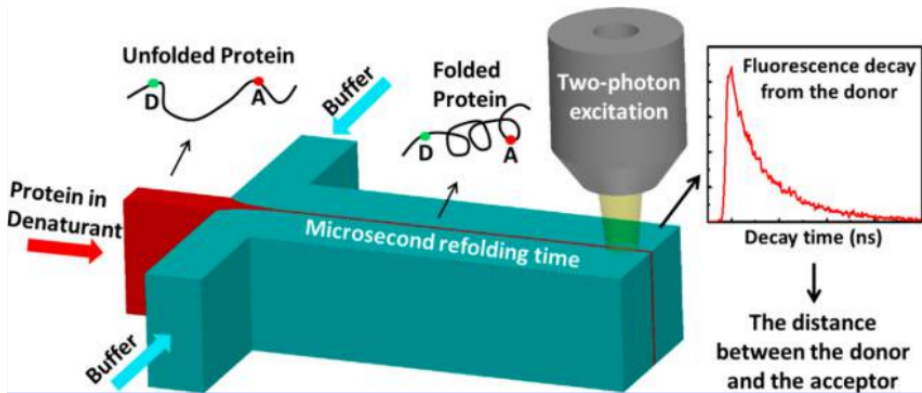
## Fluorescence resonance energy transfer (FRET)

**A****B**

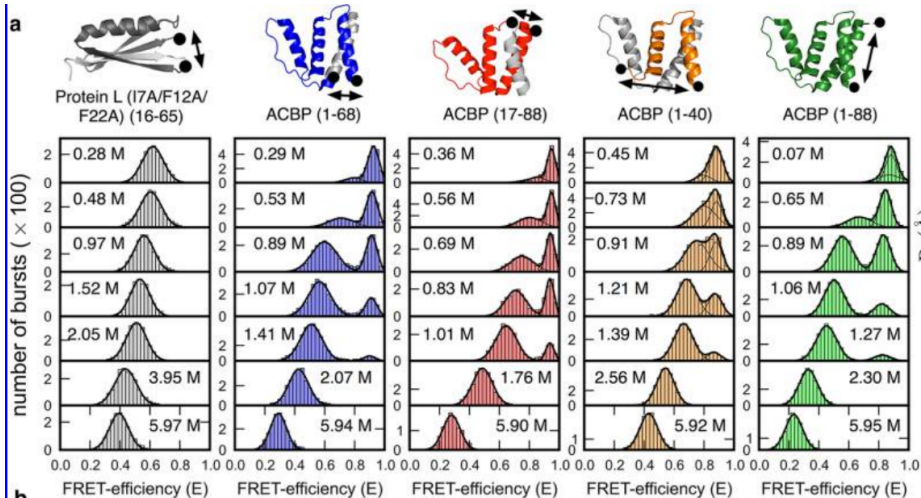
# Fluorescence resonance energy transfer (FRET)



# Time-resolved FRET (TR-FRET)

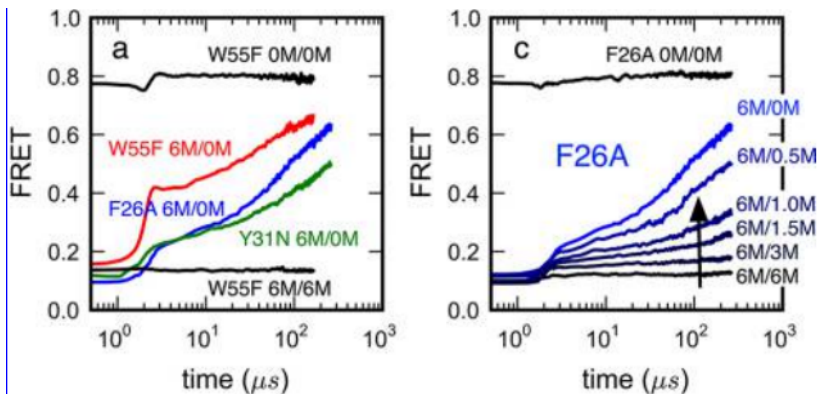


## FRET sur ACBP



## FRET sur ACBP - Collapse très lent

Solution dénaturant (6 M GuHCl) vers solution de repliement (0 M GuHCl):



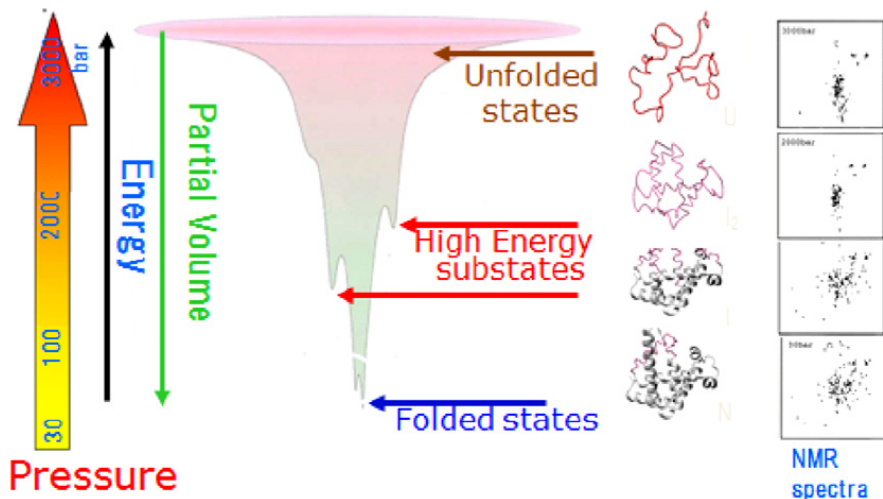
Indication pour: Formation d'une ensemble compact et hétérogènes de structures dépliées

Vincent A. Voelz et al. (2012). In: *J. Am. Chem. Soc.* 134.30



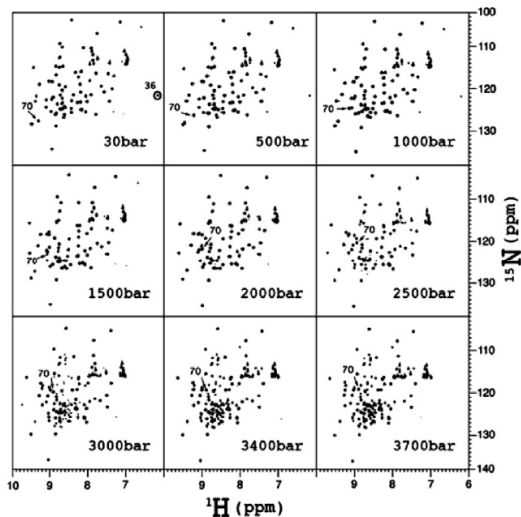
RMN

# Pressure et RMN

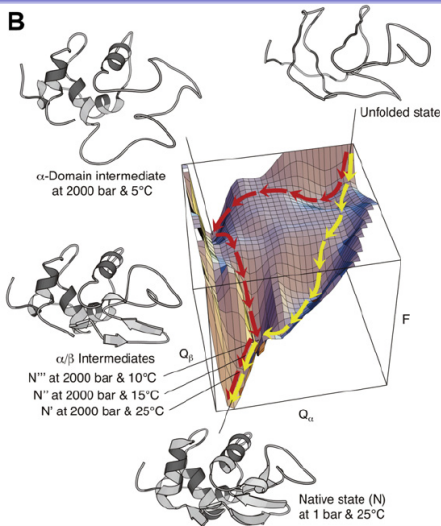


Kazuyuki Akasaka, Ryo Kitahara, and Yuji O. Kamatari (2013). In: *Archives of Biochemistry and Biophysics*. Protein Folding and Stability 531.1-2

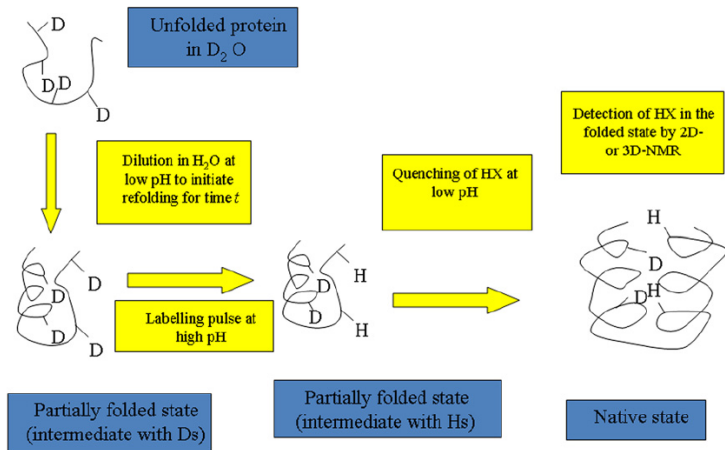
## Pression et RMN



# Pressure et RMN



# Quench-flow pour détecter états intermédiaires

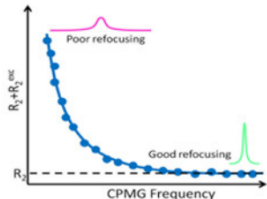
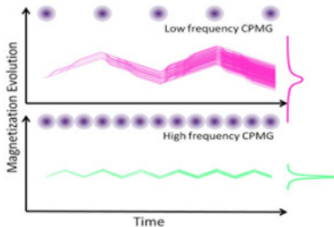
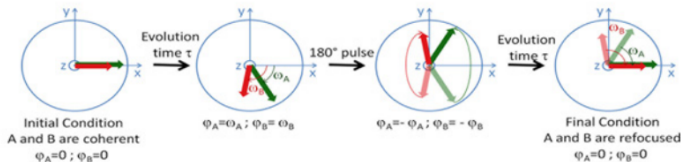


HX: hydrogen exchange

José L. Neira (2013). In: *Archives of Biochemistry and Biophysics*. Protein Folding and Stability 531.1–2

# Relaxation dispersion NMR (RD-NMR)

## Relaxation Dispersion NMR

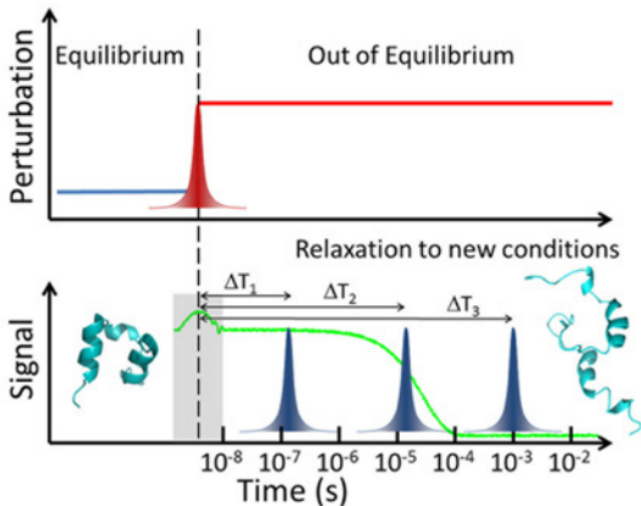


Victor Muñoz and Michele Cerminara (2016). In: *Biochem J* 473.17

# Méthodes pour cinétique "ultra rapide"

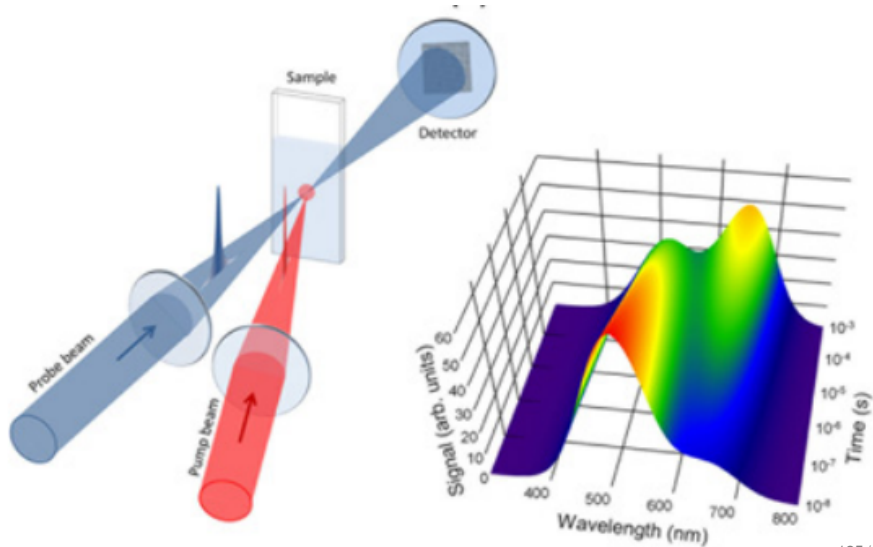
## Laser T-jump

## Ultrafast Kinetic Perturbation Methods





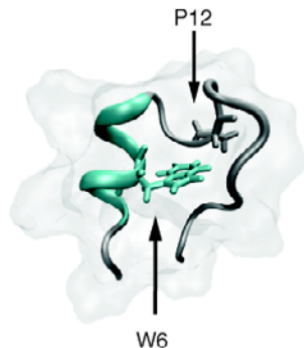
# Laser T-jump



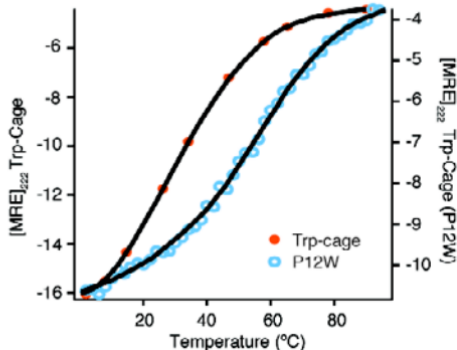
- 5 Protéines qui se replient rapidement
  - Protéines qui se replient rapidement

# Protéines qui se replient rapidement

# Trp-cage



(b)

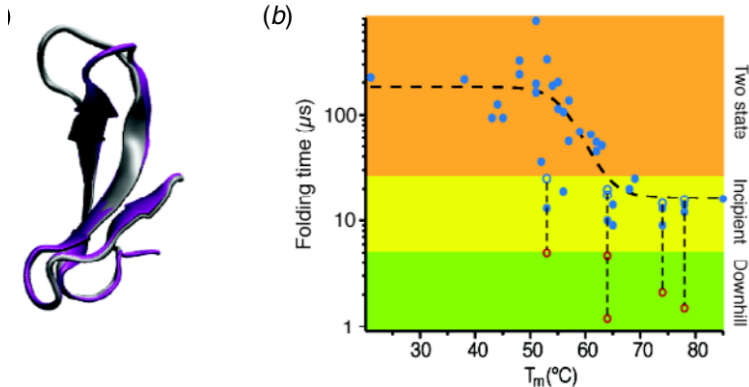


P12W: mutant plus stable et se replie plus rapidement (facteur 4)

Courbes obtenues par dichroïsme circulaire (CD)

Hannah Gelman and Martin Gruebele (2014). In: *Quarterly Reviews of Biophysics* 47.2

## domaine WW



forme native (en noir): longue boucle qui relie les deux brins  $\beta$ , important pour sa fonction de liaison

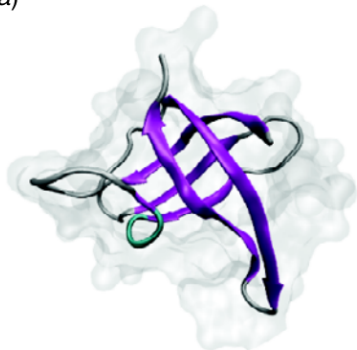
mutant stabilisé (en magenta): se replie plus rapidement, mais son activité de liaison est réduite, comme la boucle est plus petite

(b) corrélation stabilité  $\leftrightarrow$  vitesse de repliement de 35 mutants du domaine WW

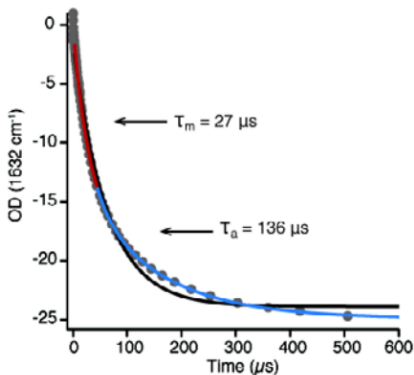
Hannah Gelman and Martin Gruebele (2014). In: *Quarterly Reviews of Biophysics* 47.2

# Cold shock proteins

(a)



(b)

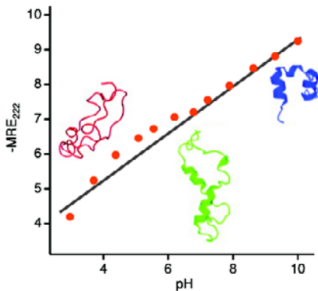


Mesure d'absorbance IR après un saut de température de 60 à 80 C  
Le fit avec deux exponentielles est meilleur qu'avec une seule (en noir)  
=> La relaxation rapide  $\tau_m = 27 \mu s$  est attribué au "Downhill folding"

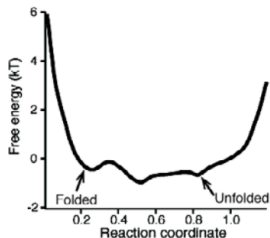
Hannah Gelman and Martin Gruebele (2014). In: *Quarterly Reviews of Biophysics* 47.2

# BBL - exemple du "downhill folding"

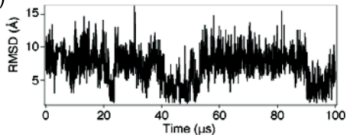
(a)



(b)



(c)



- a) CD linéaire => un seul minimum d'énergie libre
- b) Paysage d'énergie libre calculé par dynamique moléculaire
- c) Pas de transition nette, comme pour les "two-state folder"

Hannah Gelman and Martin Gruebele (2014). In: *Quarterly Reviews of Biophysics* 47.2

## 6 Repliement par dynamique moléculaire

- Introduction
- Temps de repliement
- Markov State Models (MSM)
- Etat déplié
- Thermodynamique du repliement



# Introduction

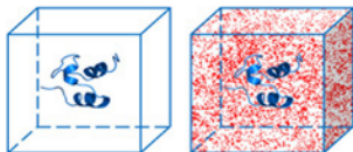
## Molecular Dynamics Simulations

## A. Force Field

$$U = \sum k_b (r - r_0)^2 + \sum k_\theta (\theta - \theta_0)^2 + \sum A [1 + \cos(nT - \phi)] + \sum \sum q_i q_j / r_{ij} + \sum \sum B \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right]$$

bond stretching
bending
torsional
electrostatics
van der Waals

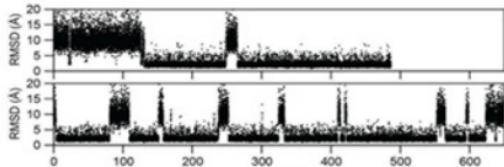
## B. Simulation System



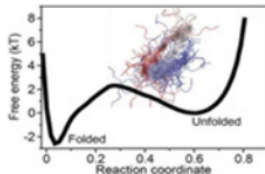
## C. Specialized High Performance Computing



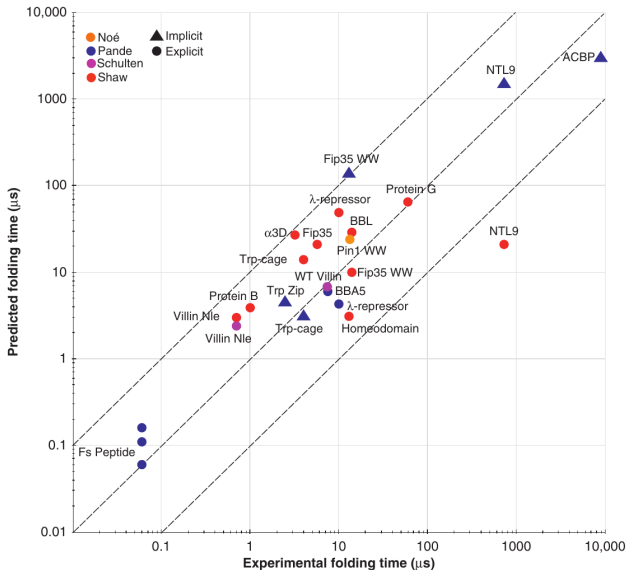
## D. Molecular Trajectories



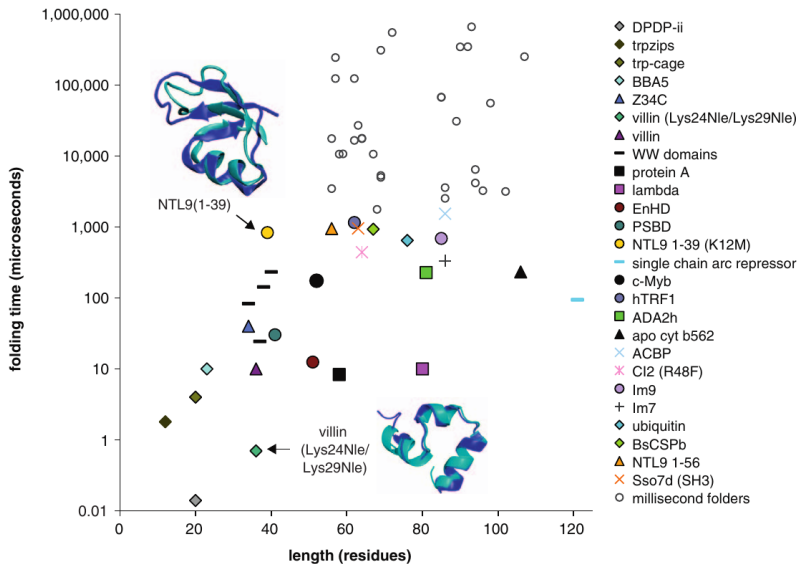
## E. Free Energy Surface calculation



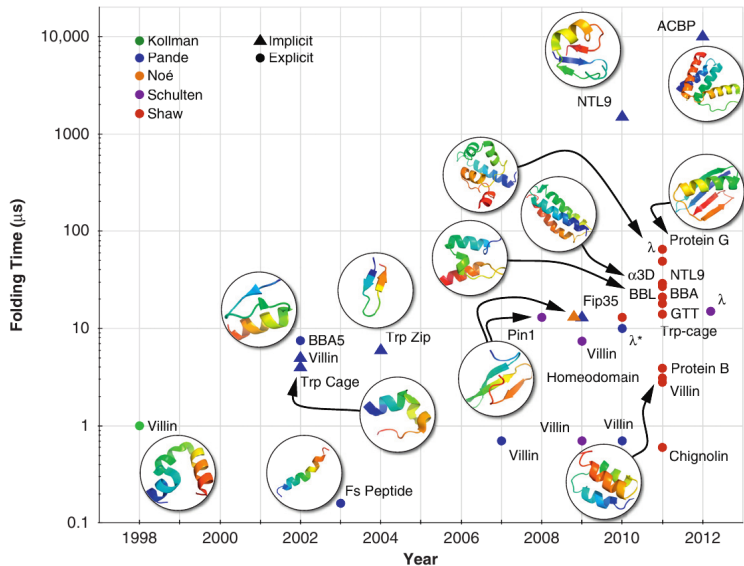
# Temps de repliement



Current Opinion in Structural Biology

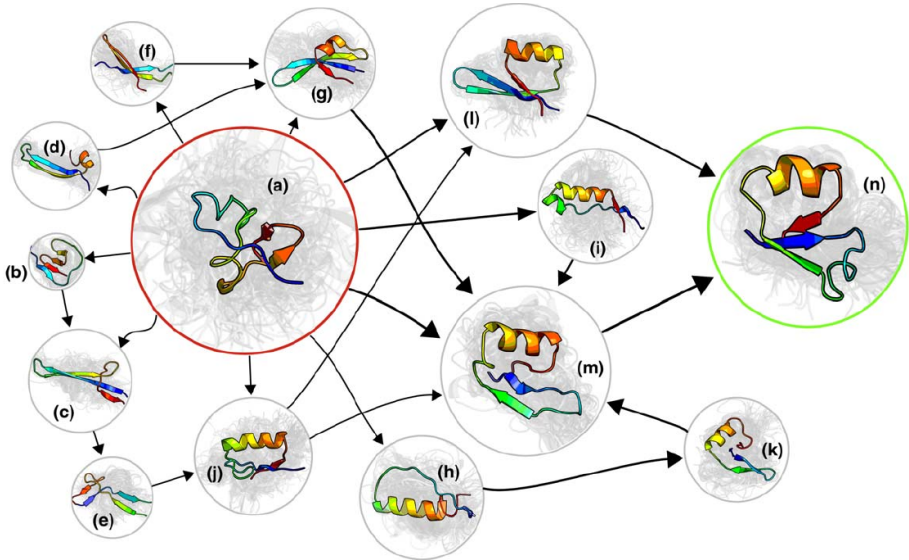


Current Opinion in Structural Biology



Current Opinion in Structural Biology

# Markov State Models (MSM)

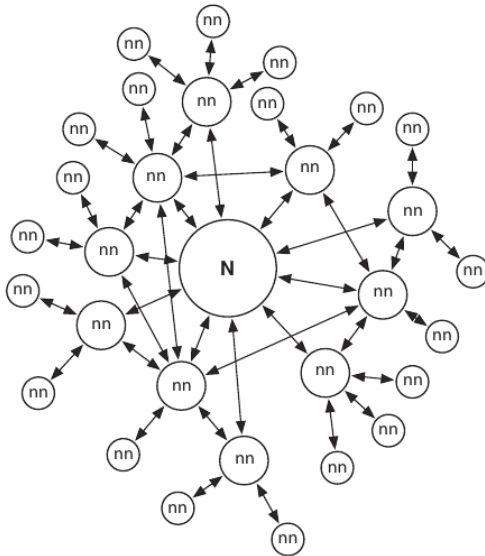


Current Opinion in Structural Biology

protéine NTL9,  
*Structural Biology* 21.1

Gregory R Bowman, Vincent A Voelz, and Vijay S Pande (2011). en. In: *Current Opinion in*



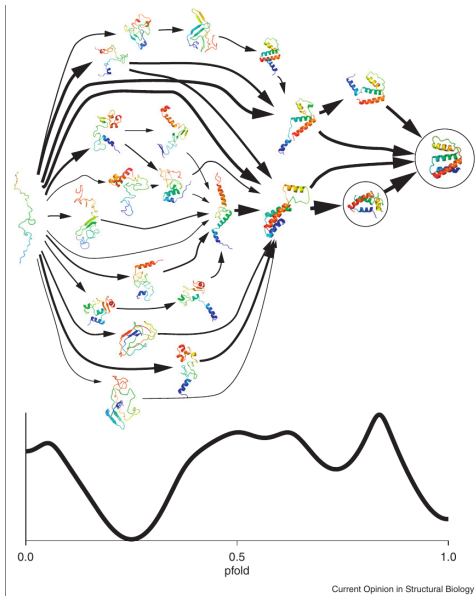


Current Opinion in Structural Biology

"Kinetic hubs", N: natif, nn: non-natif,

(2011). en. In: *Current Opinion in Structural Biology* 21.1

Gregory R Bowman, Vincent A Voelz, and Vijay S Pande

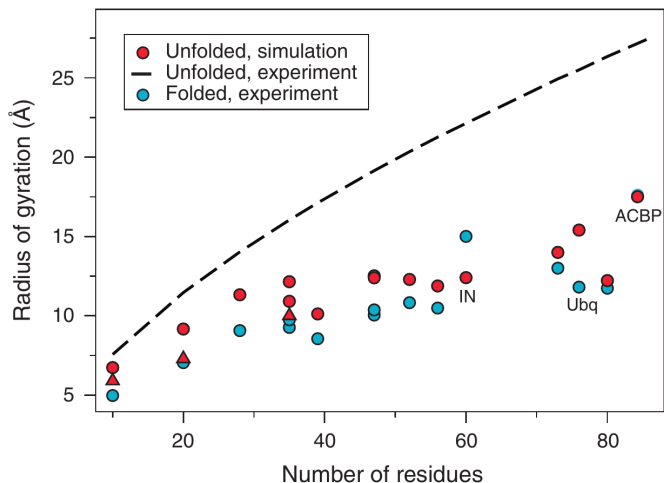


protéine ACBP,

Thomas J Lane et al. (2013). en. In: *Current Opinion in Structural Biology* 23.1

Etat déplié

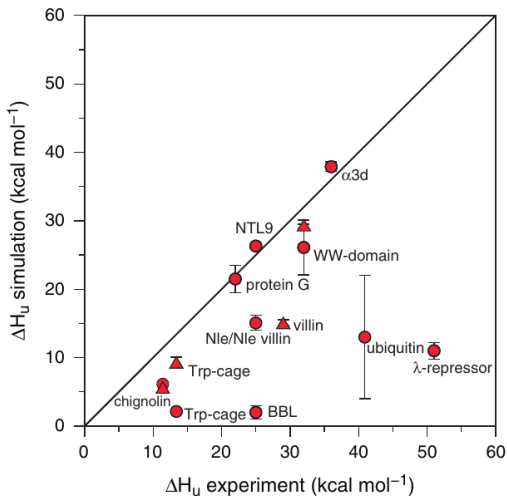
## Etat déplié: difficile en MD



Current Opinion in Structural Biology

# Thermodynamique du repliement

## Prédiction de l'enthalpie de dépliement avec MD



Current Opinion in Structural Biology

## Conclusions de Piana et al.

Peuvent les champs de forces en dynamique moléculaire reproduire les données expérimentales du repliement ?

Oui pour :

- Structure native, repliée
- Taux de repliement

Non pour:

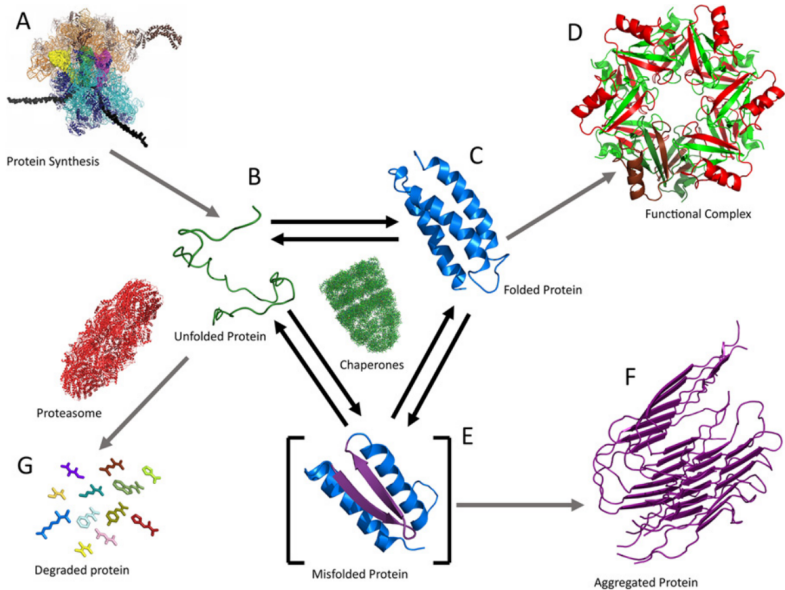
- Cinétique détaillée
- Structures dépliées
- Enthalpie de l'état repliée plus bas qu'en expérimental

## 7 Repliement in vivo

- Introduction
- Environnement cellulaire
- Chaperonnes

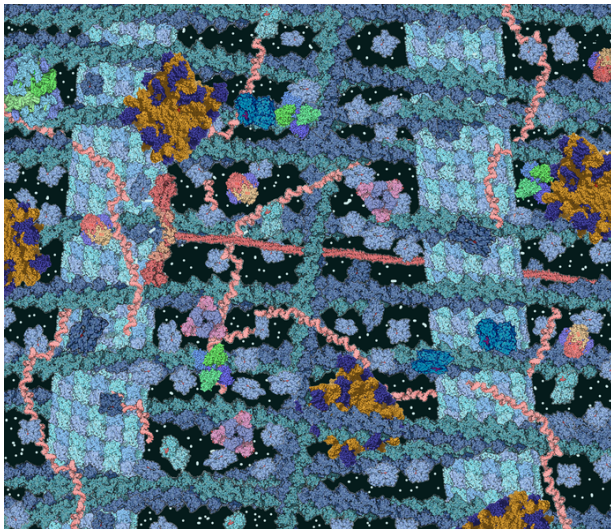


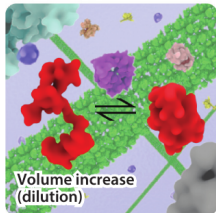
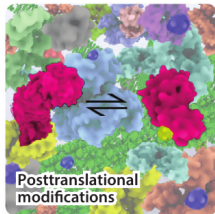
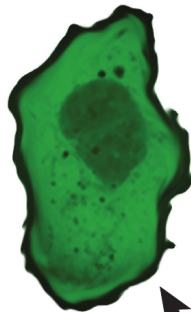
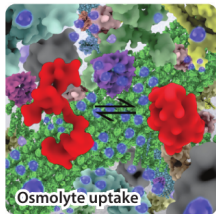
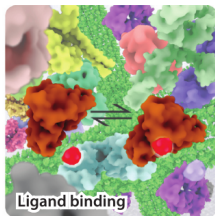
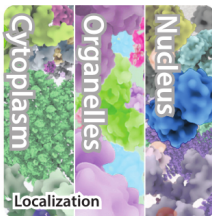
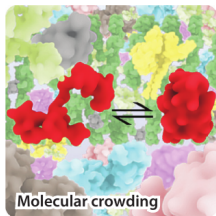
# Introduction



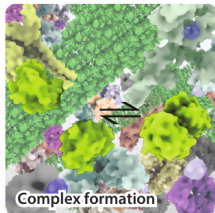
# Environnement cellulaire

# Molecular crowding





External conditions  
(e.g., temperature,  
pressure, and  
osmolarity)



# Chaperonnes

# Chaperonnes

- Chaperonne: 19<sup>ème</sup> siècle, une femme mariée et plus âgée qui veille sur une autre jeune femme non mariée pour qu'elle n'ait pas de mauvaises fréquentations.
- Analogie aux protéines:
  - supervisent l'état de protéines naissantes
  - les maintiennent sur le bon chemin du repliement
  - les éloignent de mauvaises fréquentations qui pourraient mener vers un mauvais assemblage ou agrégation
- Les chaperonnes (des protéines) catalysent le repliement, mais ne changent pas le repliement final, qui est toujours déterminé par la séquence de chaque protéine.

## GroEL-GroES

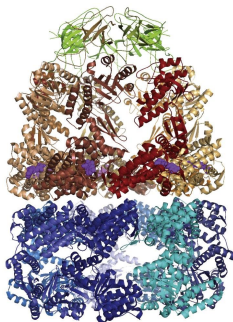
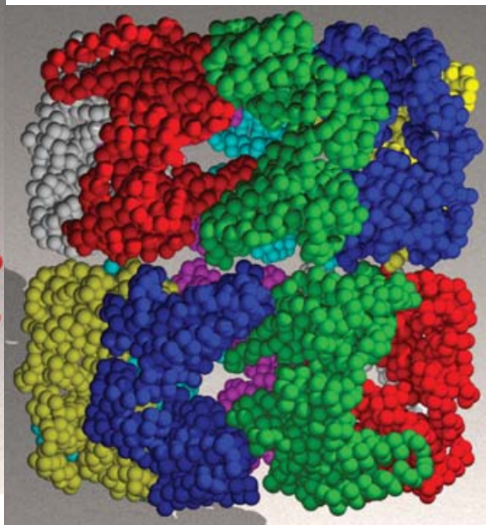
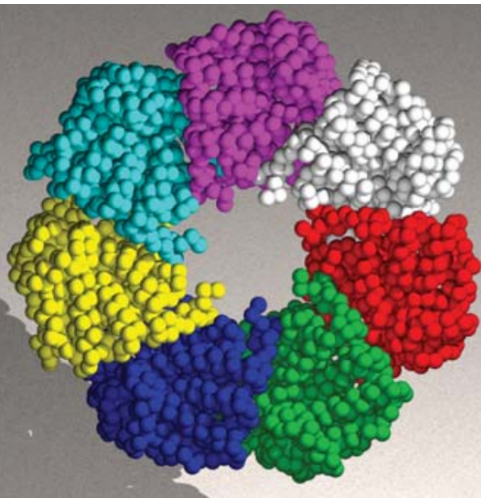


Figure 4.12.1 How Proteins Work (©2012 Garland Science)

- complexe GroEL-GroES (1PF9), "chaperonins (angl)" (aident au repliement)
- GroES en haut, GroEL au milieu et en bas
- Forme de tonneau, protéine rentre par en haut.
- Protéine est liée par la surface intérieure hydrophobe de GroEL, le temps qu'elle se replie, puis largué après un enfouissement de la surface hydrophobe de GroEL



# GroEL



# GroEL-GroES

- Deux produits du GroE operon
- GroEL (L pour "large"), GroES (S pour "small")
- complexe GroEL-GroES: 14 copies de GroEL (deux anneaux de 7) et 7 copies de GroES
- GroEL:
  - Protéine rentre d'un côté à l'intérieur d'un anneau
  - Une barrière entre les deux anneaux empêche la protéine de traverser les deux anneaux
  - Les deux anneaux communiquent via des changements structuraux allostériques
  - Liaison de ATP et GroES à GroEL élargissent la cavité de GroEL et induisent l'enfouissement de la surface hydrophobe de GroEL qui devient hydrophile pour pouvoir larguer la protéine.
  - La communication allostérique entre les deux anneaux empêche que GroES se lie des deux côtés de GroEL en même temps.

# GroEL-GroES

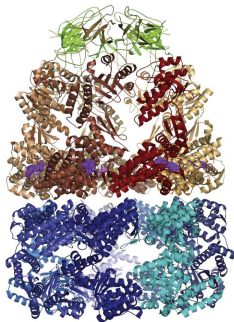
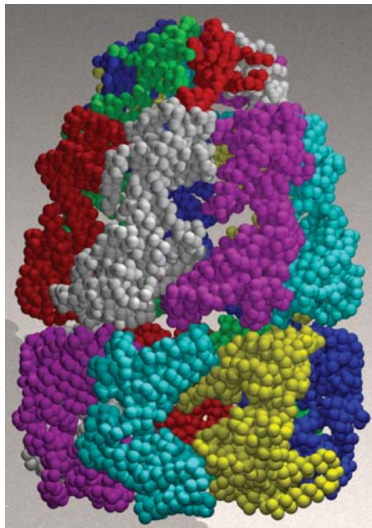


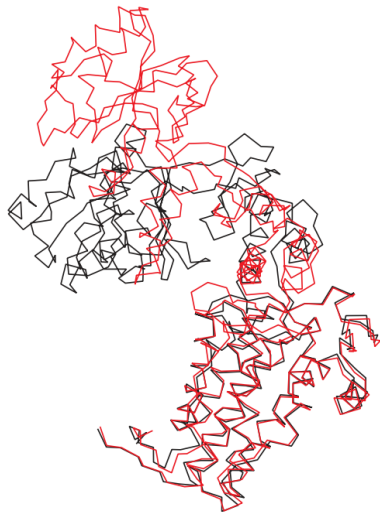
Figure 4.12.1 How Proteins Work (©2012 Garland Science)



## GroEL-GroES

- La protéine à environ 20s dans la cavité de GroEL pour se replier correctement
- Si elle sort de nouveau mal replié elle peut entrer dans GroEL (d'une autre complexe) une 2ème fois
- Processus "consomme" 7 voir 14 molécules d'ATP

# Changement conformationnel de GroEL



- "Hinge motion": rotation de 90 degrés du domaine apical

# The end

- MERCI pour votre attention!

## 8 Bibliographie

# Bibliographie I

- Akasaka, Kazuyuki, Ryo Kitahara, and Yuji O. Kamatari (2013). "Exploring the folding energy landscape with pressure". In: *Archives of Biochemistry and Biophysics*. Protein Folding and Stability 531.1–2, pp. 110–115.
- Bowman, Gregory R, Vincent A Voelz, and Vijay S Pande (2011). "Taming the complexity of protein folding". en. In: *Current Opinion in Structural Biology* 21.1, pp. 4–11.
- Chen, Yiwen et al. (2008). "Protein folding: Then and now". In: *Archives of Biochemistry and Biophysics*. Highlight Issue: Protein Folding 469.1, pp. 4–19.
- Daggett, Valerie and Alan R. Fersht (2003). "Is there a unifying mechanism for protein folding?" In: *Trends in biochemical sciences* 28.1, pp. 18–25.
- Dill, Ken A. et al. (2008). "The Protein Folding Problem". en. In: *Annual Review of Biophysics* 37.1, pp. 289–316.
- Fersht, Alan R. and Valerie Daggett (2002). "Protein folding and unfolding at atomic resolution". In: *Cell* 108.4, pp. 573–582.
- Gelman, Hannah and Martin Gruebele (2014). "Fast protein folding kinetics". In: *Quarterly Reviews of Biophysics* 47.2, pp. 95–142.
- Haran, Gilad (2012). "How, when and why proteins collapse: the relation to folding". en. In: *Current Opinion in Structural Biology* 22.1, pp. 14–20.



# Bibliographie II

- Korzhnev, Dmitry M. and Lewis E. Kay (2008). "Probing Invisible, Low-Populated States of Protein Molecules by Relaxation Dispersion NMR Spectroscopy: An Application to Protein Folding". In: *Acc. Chem. Res.* 41.3, pp. 442–451.
- Lane, Thomas J et al. (2013). "To milliseconds and beyond: challenges in the simulation of protein folding". en. In: *Current Opinion in Structural Biology* 23.1, pp. 58–65.
- Muñoz, Victor and Michele Cerminara (2016). "When fast is better: protein folding fundamentals and mechanisms from ultrafast approaches". In: *Biochem J* 473.17, pp. 2545–2559.
- Neira, José L. (2013). "NMR as a tool to identify and characterize protein folding intermediates". In: *Archives of Biochemistry and Biophysics. Protein Folding and Stability* 531.1–2, pp. 90–99.
- Onuchic, José Nelson and Peter G Wolynes (2004). "Theory of protein folding". en. In: *Current Opinion in Structural Biology* 14.1, pp. 70–75.
- Piana, Stefano, John L Klepeis, and David E Shaw (2014). "Assessing the accuracy of physical models used in protein-folding simulations: quantitative evidence from long molecular dynamics simulations". en. In: *Current Opinion in Structural Biology* 24, pp. 98–105.
- Searle, Mark S and Barbara Ciani (2004). "Design of  $\beta$ -sheet systems for understanding the thermodynamics and kinetics of protein folding". en. In: *Current Opinion in Structural Biology* 14.4, pp. 458–464.

# Bibliographie III

- Thirumalai, D. et al. (2010). “Theoretical Perspectives on Protein Folding”. In: *Annual Review of Biophysics* 39.1, pp. 159–183.
- Udgaonkar, Jayant B. (2013). “Polypeptide chain collapse and protein folding”. In: *Archives of Biochemistry and Biophysics*. Protein Folding and Stability 531.1–2, pp. 24–33.
- Voelz, Vincent A. et al. (2012). “Slow Unfolded-State Structuring in Acyl-CoA Binding Protein Folding Revealed by Simulation and Experiment”. In: *J. Am. Chem. Soc.* 134.30, pp. 12565–12577.