



UNIVERSITÉ
CAEN
NORMANDIE

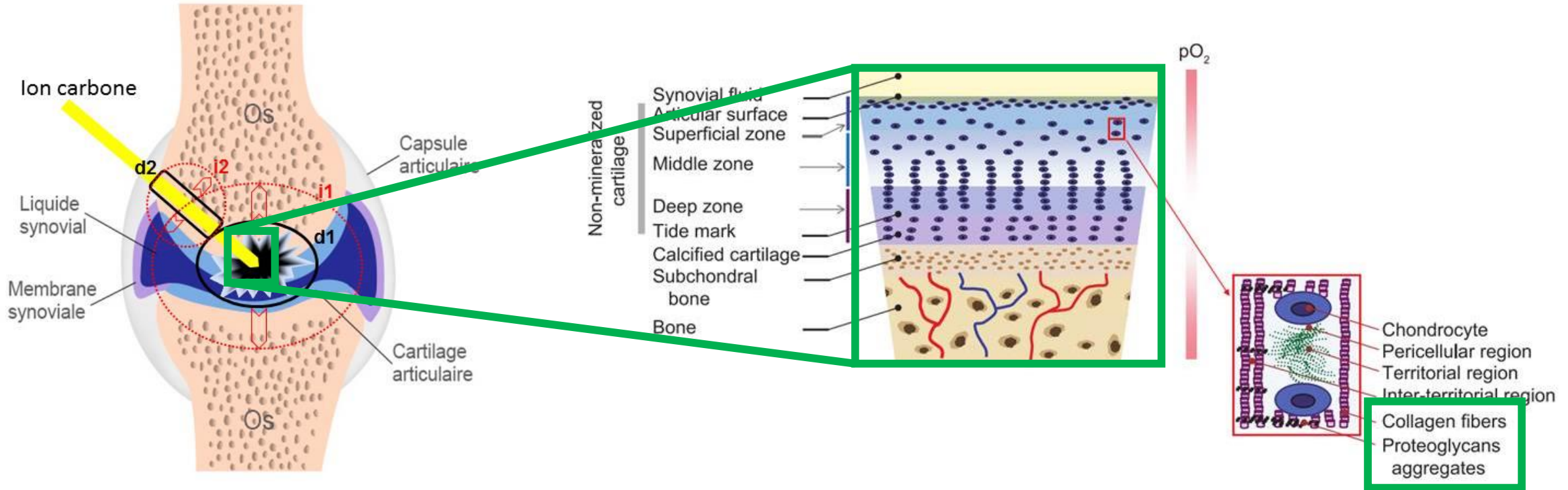


Production de matrikines après irradiation de protéines de la matrice extracellulaire et effets biologiques sur les cellules du tissu sain

Jean-Christophe POULLY

Université de Caen, laboratoire CIMAP

Exemple du traitement d'un cancer du cartilage par hadronthérapie



Irradiation directe de protéines : fragmentation ?

Que sont les matrikines ?

Exemple du collagène dégradé par des enzymes (Matrix metalloproteinases)

Collagens I, III, IV, V



MMP-8 and/or MMP-9

Bioactive fragments
Proline-glycine-
proline/acetylated PGP



Receptors
CXCR1, CXCR2

Functions
Inflammation
Neutrophil
chemoattraction

Biomarker

Chronic lung & heart
diseases, cancer

α 1 chain of collagen I



MMP-2, MMP-9

Bioactive fragments
C-terminal α 1 1158/59 fragment



Receptors
Integrin subunit α 4

↑ Angiogenesis
↑ Wound healing

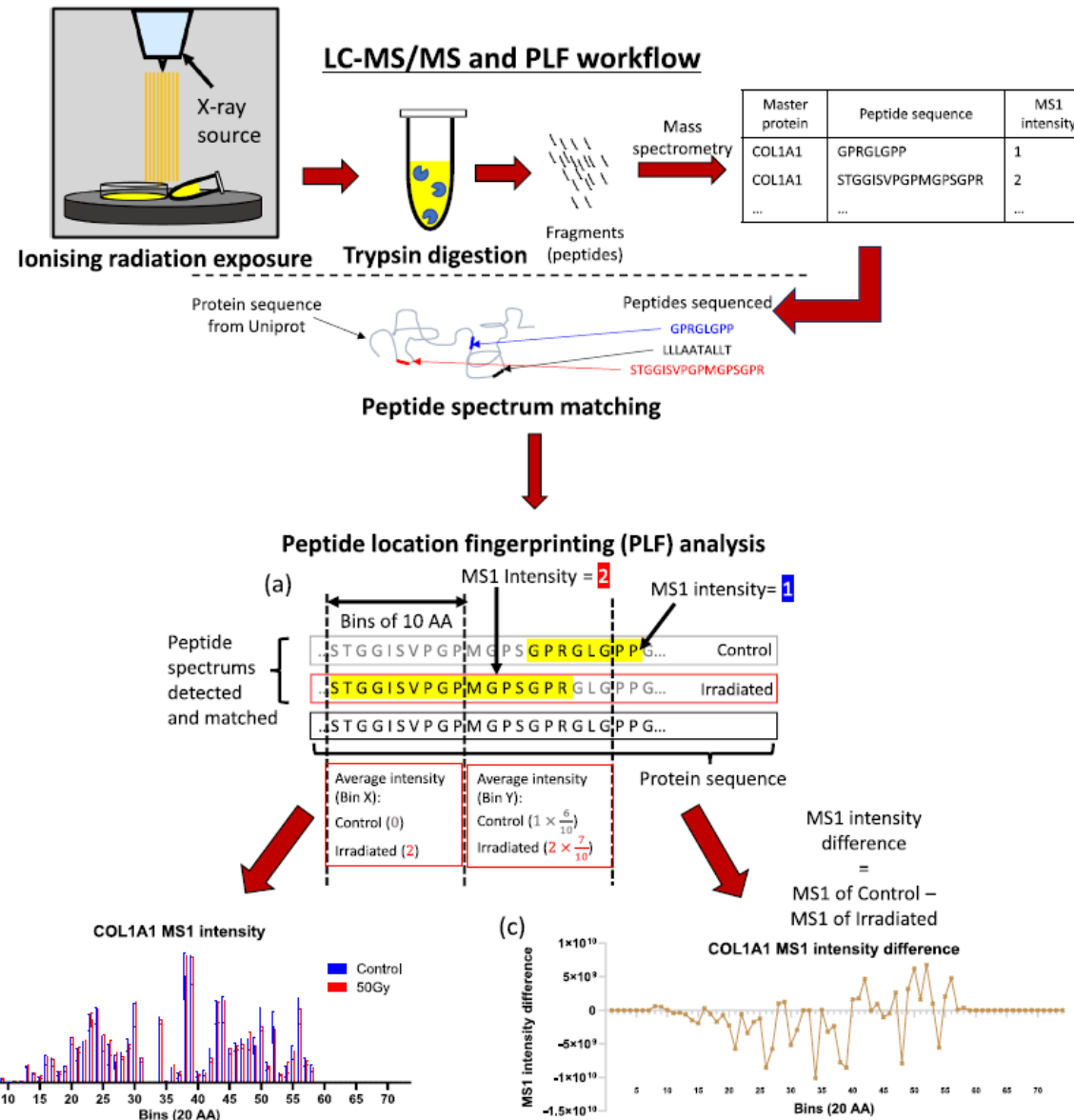
Chronic myocardial
infarction

Matrikines radio-induites : très peu d'études !...

Fragmentation de protéines après irradiation directe

En phase condensée : exemple d'une étude récente (Tuieng et al. *Acta Biomaterialia* **2025** p. 294)

Irradiation X de tendons et analyse des protéines (collagène, protéoglycanes, fibulin) par spectrométrie de masse

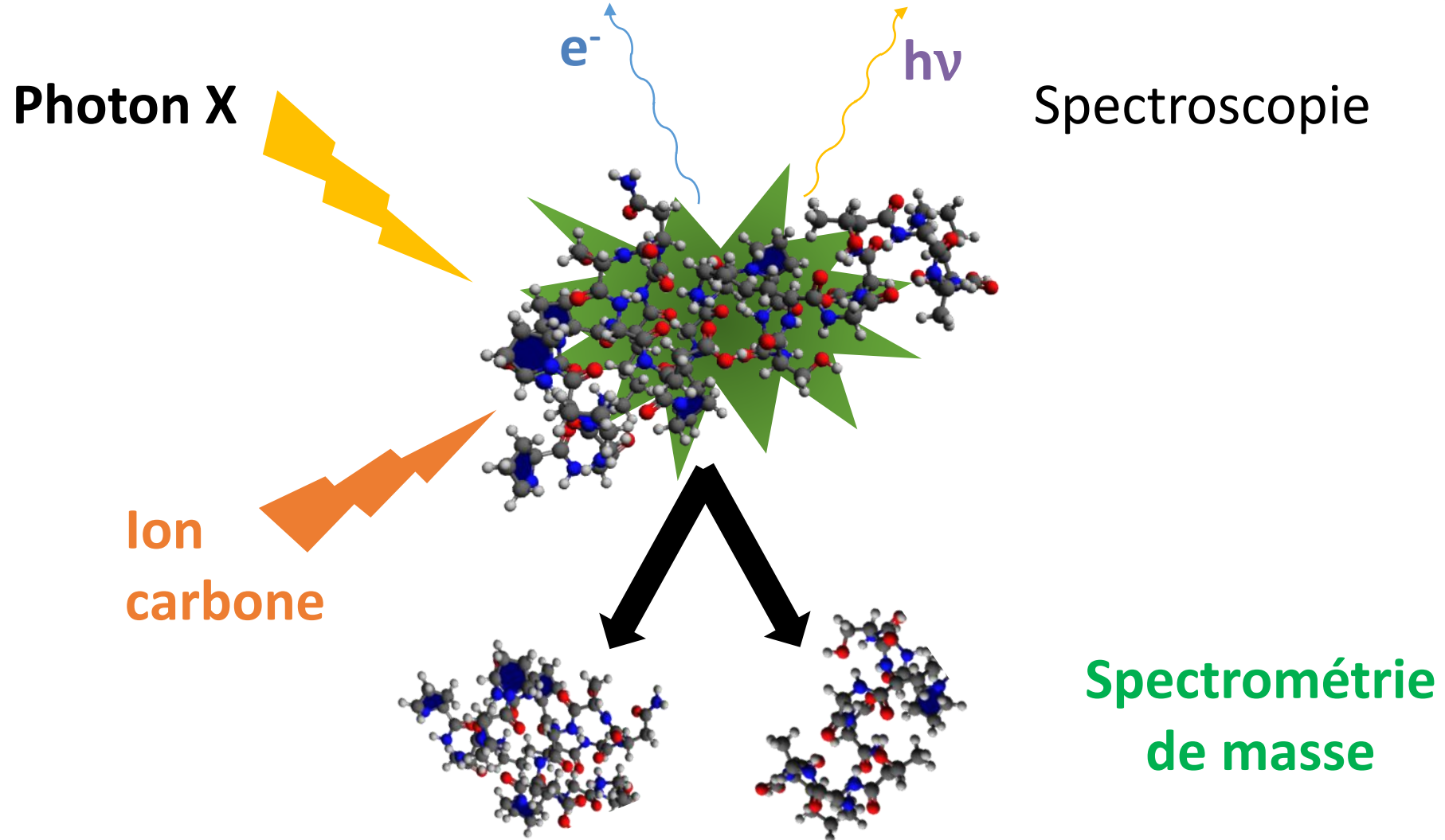


Physique moléculaire (CIMAP)

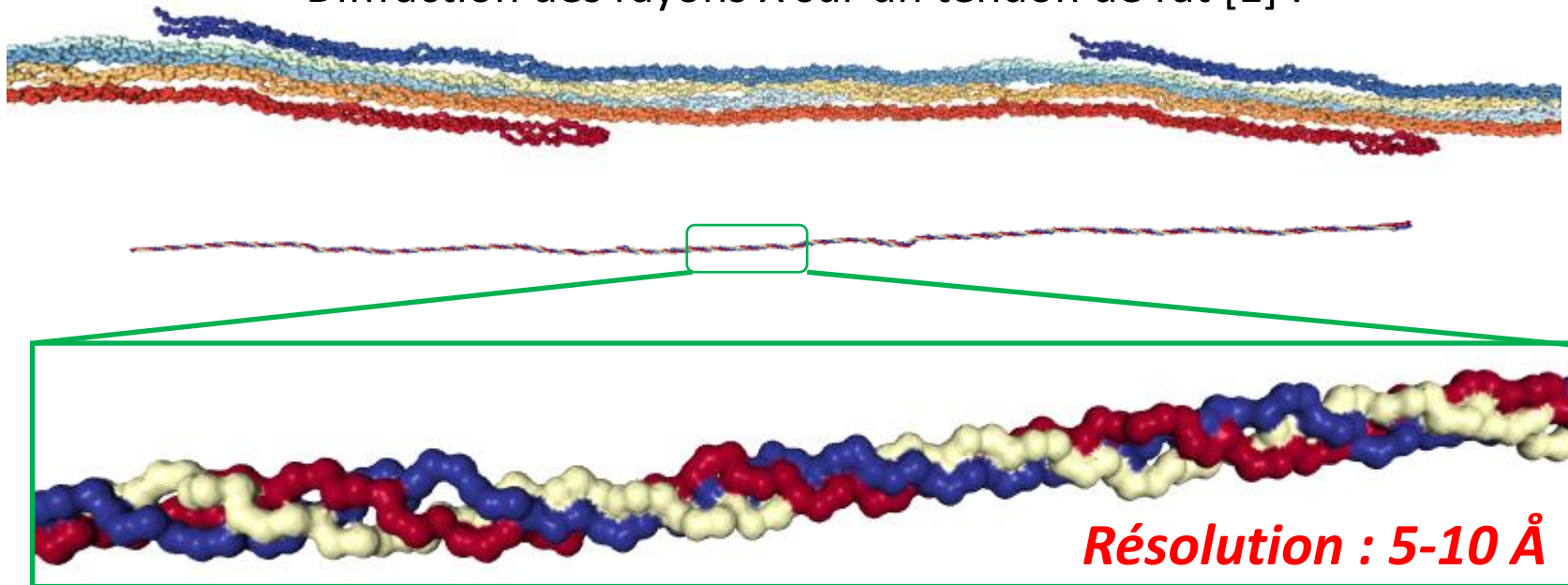
- Irradiation de protéines en phase gazeuse
- Analyse des fragments produits
- Identification des sites préférentiels de fragmentation

Biologie (CIMAP + ISTCT)

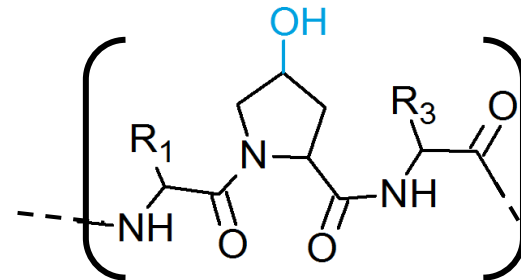
- Sélection des potentielles matrikines radio-induites
- Effets sur des modèles de cancers radiorésistants (cartilage, cerveau)
 - Cytotoxicité
 - Prolifération



Diffraction des rayons X sur un tendon de rat [1] :



- Séquence : $(\text{Xxx-Yyy-Gly})_n$
- 20 % prolines
- L'hydroxyproline stabilise la triple hélice

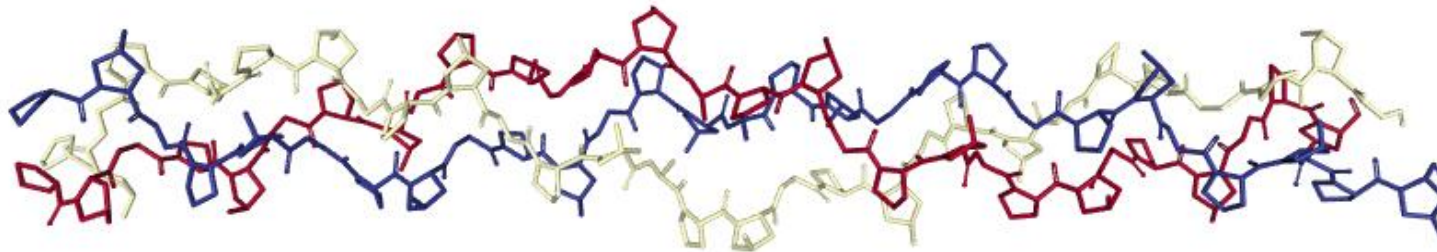


[1] Orgel *et al.* Proceedings of the National Academy of Sciences **2006** 103 p. 9001

Modèles peptidiques de la triple hélice

Séquences : (Pro-Pro-Gly)₁₀ et (Pro-Hyp-Gly)₁₀

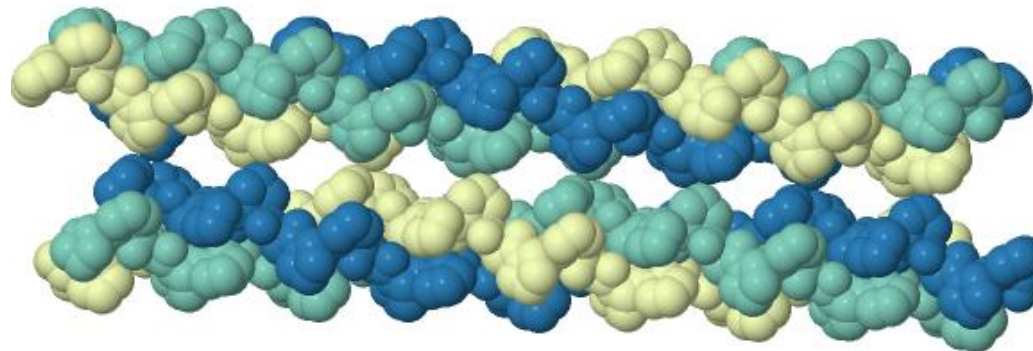
Trimère :



Berisio et al. *Protein Sci.* **2002** 11 p. 262

Résolution : 1,3 Å

Hexamère :



En phase gazeuse :

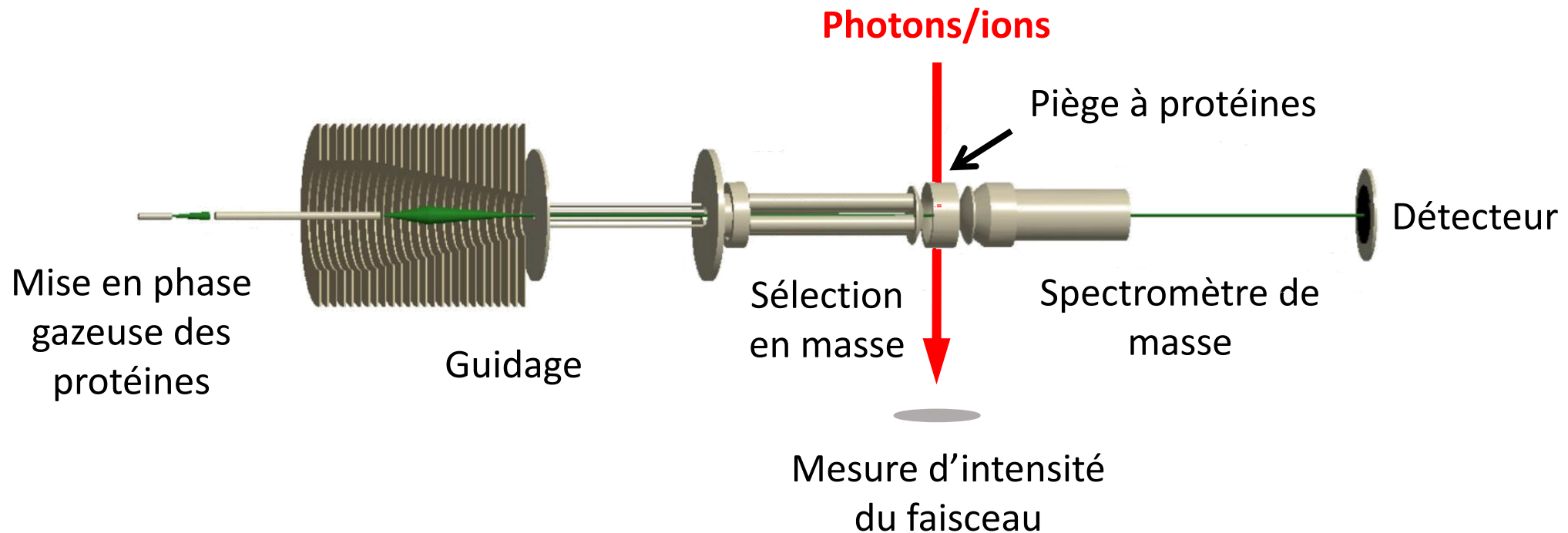
Lalande et al. *Chem. Eur. J.* **2018**
p. 13728

Stabilisation de la triple hélice par les **hydroxyprolines**

Raines, R. T. *Protein Sci.* **2006** 15 p. 1219

Collaboration: T. Schlathölter (Université de Groningen, Pays-Bas)

- Rayons X : synchrotron BESSY II (Berlin, Allemagne)
- Ions carbonés : ligne IRRSUD, GANIL (Caen)



Peptide isolé

Précurseur

Rayons-X
150 eV

NDI

C⁴⁺
0.98 MeV/u

b₃⁺
y₃⁺
b₆⁺
y₆⁺
b₉⁺
b₁₂⁺
M²⁺

m/z (Da)

Mass spectrum of the triple helix precursor. The x-axis is m/z from 200 to 1600. The spectrum shows several peaks labeled: b_3^+ , y_3^+ , b_6^+ , y_6^+ , M^{4+} , b_9^+ , y_9^+ , M^{3+} , NDI (red), b_{12}^+ , and M^{2+} . A vertical pink line is at m/z 1100.

**Site préférentiel de fragmentation :
Glycine-Proline**

Fragment

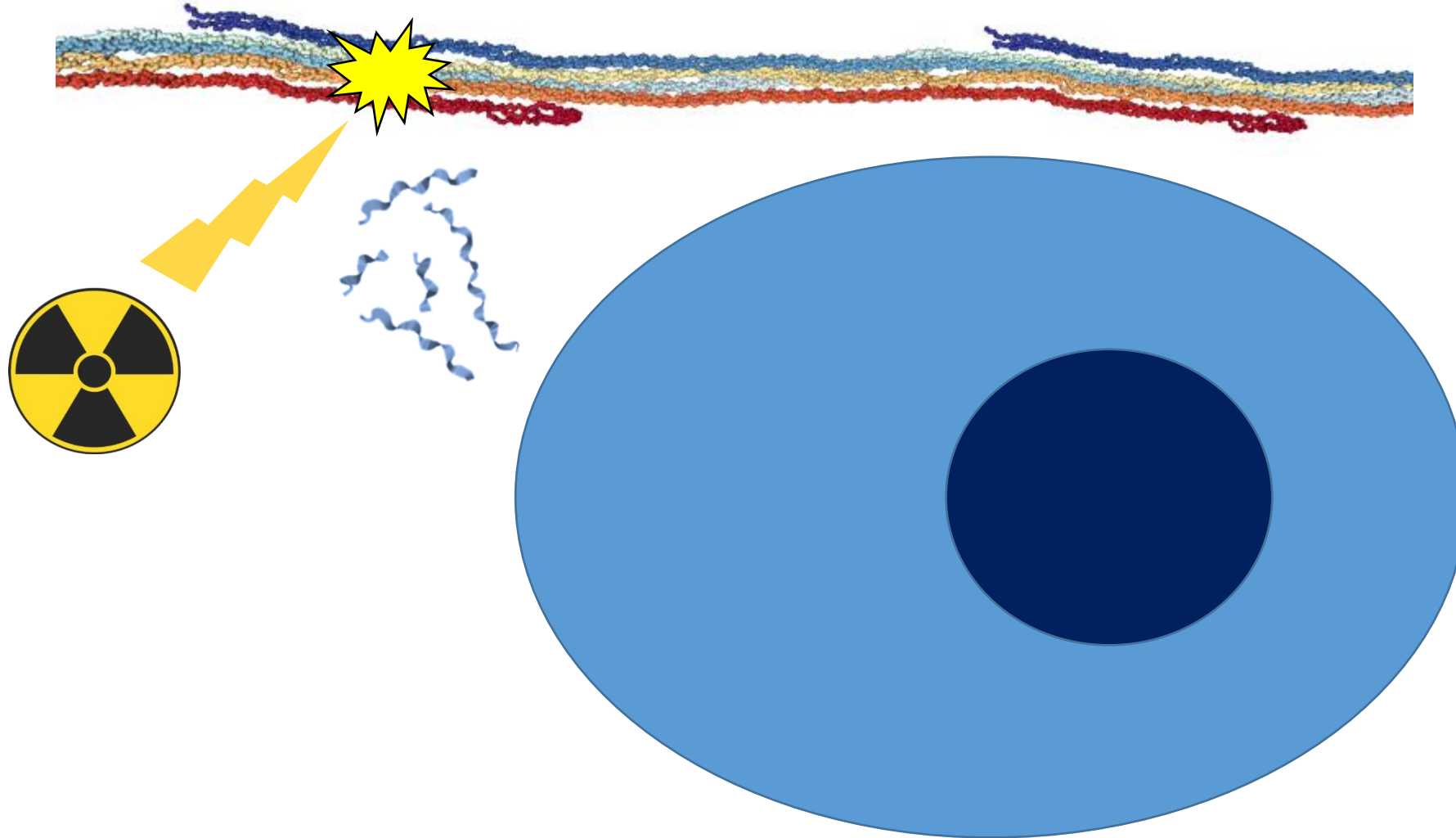
Direct Radiation Effects on the Structure and Stability of Collagen and Other Proteins

Mathieu Lalande,^[a] Lucas Schwob,^[b] Violaine Vizcaino,^[a] Fabien Chiot,^[c] Philippe Dugourd,^[d] Thomas Schlathölter,^[e] and Jean-Christophe Pouilly^{*,[a]}

In this review, recent progress in understanding the direct effects of radiation on the structure and stability of collagen, the most abundant protein in the human body, and other proteins is surveyed. Special emphasis is placed on the triple-helical structure of collagen, as studied by means of collagen mimetic peptides. The emerging patterns are the dose dependence of radiation processes and their abundance, the crucial role of

radicals in covalent-bond formation (crosslinking) or cleavage, and the influence of the radiation energy and nature. Future research should allow fundamental questions, such as charge transfer and fragmentation dynamics triggered by ionization, to be answered, as well as developing applications such as protein-based biomaterials, notably with properties controlled by irradiation.

Effets biologiques de fragments du collagène



Séquence du collagène humain de type II

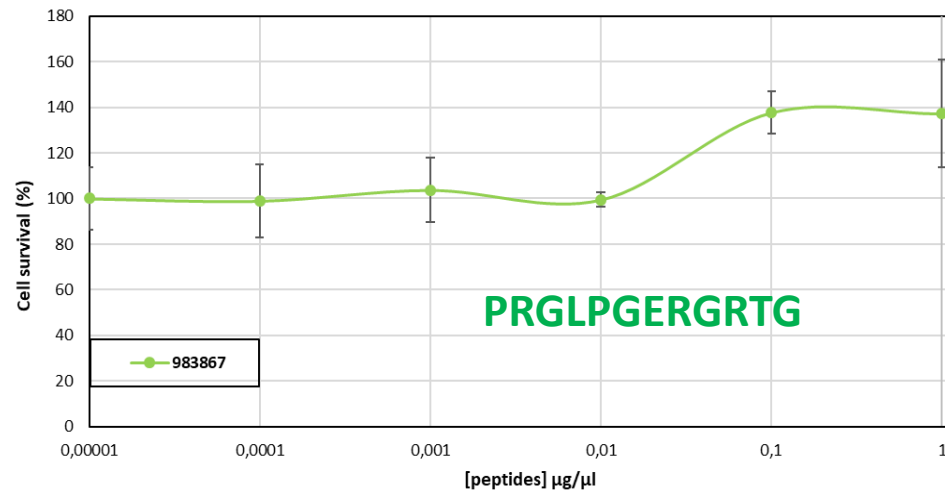
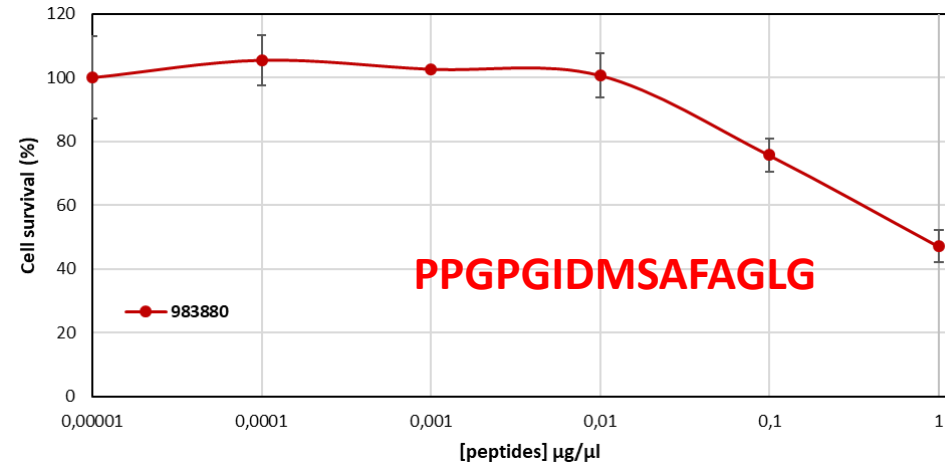


Length 1,487										Last updated 2007-01-23 v3									
Mass (Da) 141,785										Checksum ⁱ A8312503825BF0BB									
10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130	140						
MIRLGAPQTL	VLLTLLVA	LRCQGQDVQE	AGSCVQDQQR	YNDKDVWKPE	PCRICVCDTG	TVLCDDIICE	DVKDCLSPEI	PFGECCPICP	TDLATASQGP	GPKGQKGEPPG	DIKDIVGPKG	PPGPQGPAGE	QGPRGDRGDK						
150	160	170	180	190	200	210	220	230	240	250	260	270	280						
GEKGAPGPRG	RDGEPGTPGN	PGPPGPPGPP	GPPGLGGNFA	AQMAGGFDEK	AGGAQLGVMQ	GPMGPMGPRG	PPGPAGAPGP	QGFQGNPGE	GEPGVSGPMG	PRGPPGPPGK	PGDDGEAGKP	GKAGERGPPG	PQGARGFPPT						
290	300	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400	410	420						
PGLPGVKGHR	GYPLDGAKG	EAGAPGVKGE	SGSPGENGSP	GPMGPRGLPG	ERGTGPAGA	AGARGNDGQP	GPAGPPGPVG	PAGGPGFPGA	PGAKGEAGPT	GARGPEGAQG	PRGEPGTPGS	PGPAGASGNP	GTDGIPGAKG						
430	440	450	460	470	480	490	500	510	520	530	540	550	560						
SAGAPGIAGA	PGFPGPRGPP	GPQGATGPLG	PKGQTGEPGI	AGFKGEQGP	GEPGPAGPQG	APGPAGEEGK	RGARGEPGGV	GPIGPPGERG	APGNRGFPQG	DGLAGPKGAP	GERGPSGLAG	PKGANGDPGR	PGEPLPGAR						
570	580	590	600	610	620	630	640	650	660	670	680	690	700						
GLTGRPGDAG	PQGVKVPSSA	PGEDGRPGPP	GPQGARGPQG	VMGFPGPKGA	NGEPGKAGEK	GLPGAPGLRG	LPKGDGETGA	AGPPGPAGPA	GERGEQGAPG	PSGFQGLPGP	PGPPGEGGKP	GDQGVPEAG	APGLVGRGE						
710	720	730	740	750	760	770	780	790	800	810	820	830	840						
RGFPGERGSP	GAQGLQGPRG	LPGTPGTDGP	KGASGPAGPP	GAQGPPGLQG	MPGERGAAGI	AGPKGDRGDV	GEKGPEGAPG	KDGGRLTGTP	IGPPGPAGAN	GEKGEVGGPP	PAGSAGARGA	PGERGETGPP	GPAGFAGPPG						
850	860	870	880	890	900	910	920	930	940	950	960	970	980						
ADGQPGAKGE	QGEAGQKGD	GAPGPQGPSG	APGPQGPTGV	TGPKGARGAQ	GPPGATGFPG	AAGRVGPPGS	NGNPGPPGPP	GPSGKDGPKG	ARGDSGPPGR	AGEPGLQGPA	GPPGEKGEPPG	DDGPSGAEGP	PGPQGLAQQR						
990	1000	1010	1020	1030	1040	1050	1060	1070	1080	1090	1100	1110	1120						
GIVGLPGQRG	ERGFPGLPGP	SGEPGKQGAP	GASGDRGPPG	PVGPPGLTGP	AGEPGREGSP	GADGPPGRDG	AAGVKGDRGE	TGAVGAPGAP	GPPGSPGPAG	PTGKQGDGRG	AGAQQGMPGS	GPAGARGIQG	PQGRGDKGE						
1130	1140	1150	1160	1170	1180	1190	1200	1210	1220	1230	1240	1250	1260						
AGEPGERGLK	GHRGFTGLQG	LPGPPGPSGD	QGASGPAGPS	GPRGPPGPVG	PSGKDGANIG	PGPIGPPGPR	GRSGETGPAG	PPGNPGPPGP	PPPGPGIDM	SAFAGLGPRE	KGPDPLQYMR	ADQAAGGLRQ	HDAEVDATLK						
1270	1280	1290	1300	1310	1320	1330	1340	1350	1360	1370	1380	1390	1400						
SLNNQIESIR	SPEGSRKNPA	RTCRDLKLCH	PEWKSQDYWI	DPNQGCTLDA	MKVFCNMETG	ETCVYPNPAN	VPKKNWSSSK	SKEKKHIWFG	ETINGGFHFS	YGDNDLAPNT	ANVQMTFLRL	LSTEGSQNIT	YHCKNSIAYL						
1410	1420	1430	1440	1450	1460	1470	1480												
DEAAGNLKKA	LLIQGSNDVE	IRAEGNSRFT	YTALKDGCTK	HTGKWGKTVI	EYRSQKTSRL	PIIDIAPMDI	GGPEQEFQVD	IGPVCFL	PPGPIDMSAFAGLG										

Test de toxicité sur des cellules du cartilage

- 46 petits peptides sélectionnés
- Toxicité testée sur des chondrocytes
- 21 peptides sans effet
- 20 peptides réduisent la survie cellulaire à haute concentration
- 4 peptides augmentent la survie cellulaire à haute concentration

Montanari et al. *Radiation and Environmental Biophysics*, 2024 vol. 63 p. 337



Effets sur des cellules du cerveau

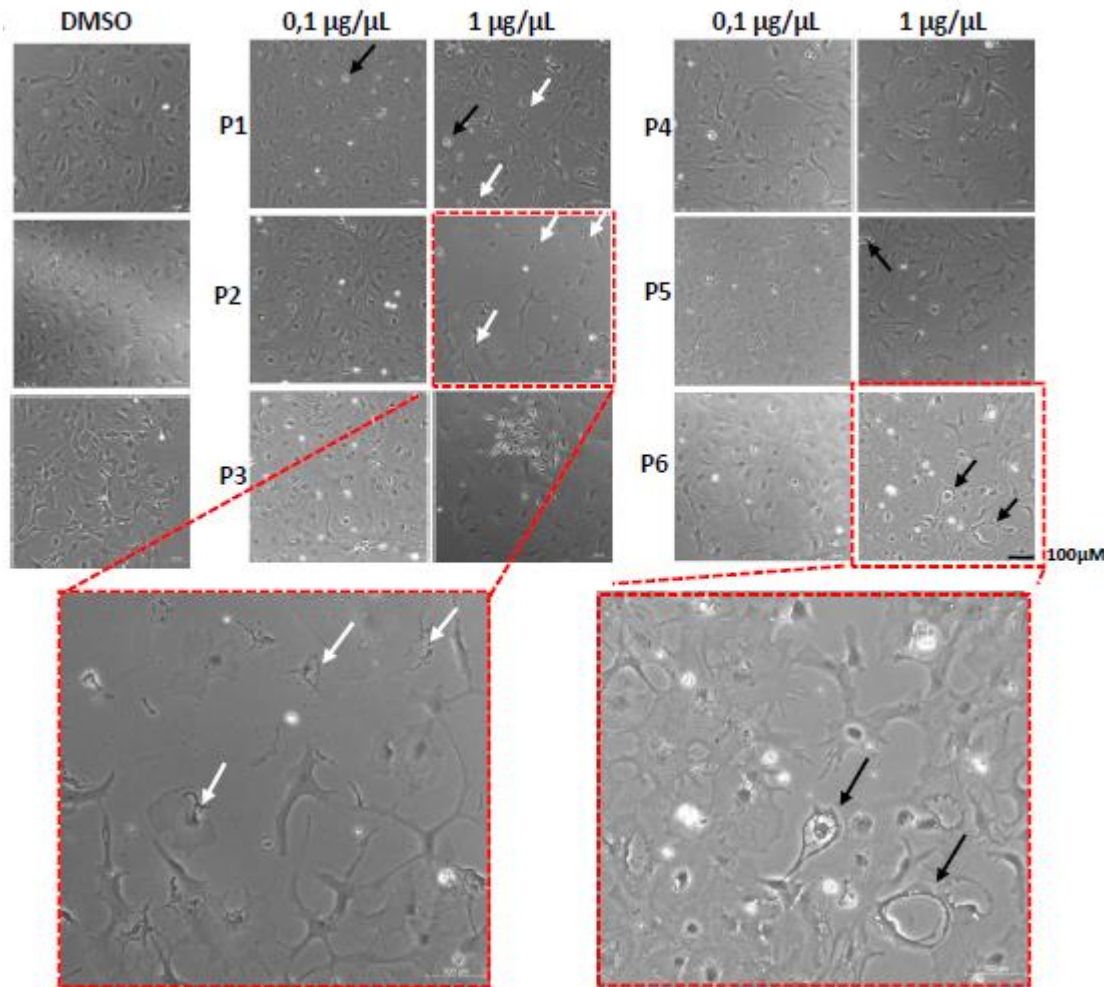
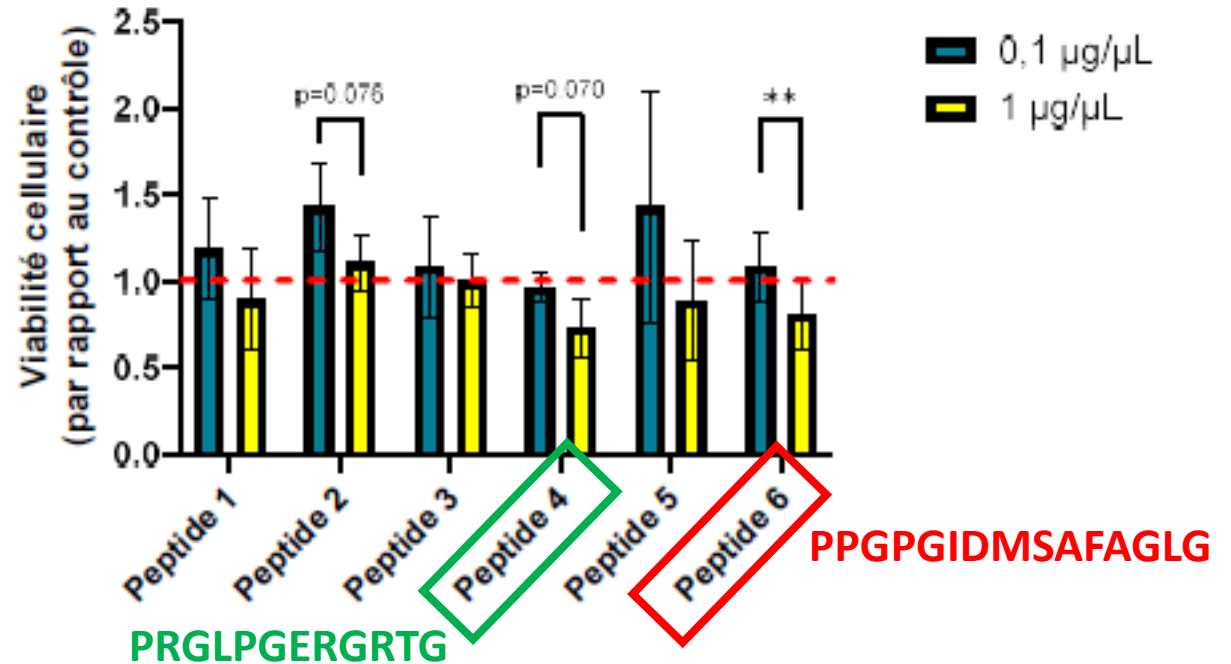


Photo des astrocytes après 7 jours de traitements prises au microscope à épifluorescence inversé, échelle: 100 µm.



Analyse de la viabilité des astrocytes après 7 jours de traitement (Crystal Violet; N=3). Test post-hoc de Tukey après une Two-way ANOVA significative (**p<0,01)

- Étude de la fibronectine et d'autres protéines de la matrice
- Identification de matrikines après irradiation de films de protéines par des ions carbonés

Remerciements



- CIMAP (Caen) : M. Lalande, A. Méry, V. Vizcaino, Y. Saintigny, J. Montanari, F. Chevalier, N. Lugand
- ISTCT (Caen) : N. Lugand, J. Aury-Landas, S. Valable
- University of Groningen : T. Schlathölter



MITI
Mission pour les
Initiatives
Transverses et
Interdisciplinaires