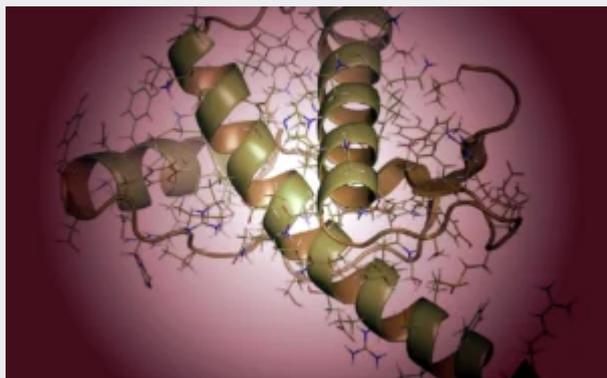


Comment les vaccins anticovid peuvent-ils produire des maladies à prion comme Creutzfeldt-Jakob ?



[Via <https://twitter.com/Xochipelli1953/status/1785692876162126190>]

La maladie de Creutzfeldt-Jakob est un des effets secondaires relevés suite aux vaccinations contre la Covid. La protéine spike des vaccins à ARNm a été suspectée de la produire. Problème : ces protéines sont supposées provenir de virus, mais aucun virus pathogène n'a jusqu'à ce jour été réellement isolé en suivant la méthode scientifique¹ ; où sont les études qui isolent et caractérisent chimiquement de manière scientifique des protéines spike dans les vaccins ? Des observations et analyses menées par diverses équipes de chercheurs ont par contre relevé la présence de graphène dans les vaccins². L'étude suivante montre le mécanisme par lequel le graphène affecte la protéine prion.

Comment le graphène affecte le mauvais pliage de la protéine prion humaine : une étude combinée d'expérimentation et de simulation de dynamique moléculaire³

Par Yongchang Zhu a, Jingjing Guo a, Ai Zhang a, Lanlan Li b, Xuewei Liu a, Huanxiang Liu a b, Xiaojun Yao b c.

- a École de pharmacie, Université de Lanzhou, Lanzhou 730000, Chine.
- b State Key Laboratory of Applied Organic Chemistry et Département de chimie, Université de Lanzhou, Lanzhou 730000, Chine.
- c State Key Laboratory of Quality Research in Chinese Medicine, Macau Institute for Applied Research in Medicine and Health, Macau University of Science and Technology, Taipa, Macau, Chine.

Reçue le 19 août 2018, révisée le 15 décembre 2018, acceptée le 23 décembre 2018, disponible en ligne le 28 décembre 2018, version du dossier le 11 janvier 2019.

Points principaux

- Il est important d'évaluer l'effet du graphène sur les protéines liées à l'amyloïde.
- L'influence du graphène sur le prion a été explorée par des expériences et des simulations MD (Dynamique moléculaire).
- L'ajout de graphène a modifié la structure secondaire de la protéine prion.
- Dans l'induction du graphène, les régions des boucles H1 et S2-H2 du prion deviennent instables.
- Le graphène peut induire un mauvais pliage du prion et entraîner un risque potentiel.

Résumé

En raison de la large application du graphène dans le domaine biomédical, il est urgent et important d'évaluer comment le graphène affecte la structure et la fonction des protéines dans notre corps, en particulier les protéines liées à l'amyloïde. La protéine prion, qui est une protéine amyloïde typique, se replie mal et s'agrège, ce qui entraîne de graves maladies à prion. Pour déterminer si le graphène favorise ou inhibe la formation de l'amyloïde, nous avons combiné les méthodes expérimentales et de simulation de la dynamique moléculaire (MD) pour étudier l'influence du graphène sur le domaine globulaire de la protéine prion (PrP117-231). Les résultats de la trempe de fluorescence et du spectre de dichroïsme circulaire ont montré que l'ajout de graphène modifiait considérablement la structure secondaire de la protéine prion, se traduisant principalement par une réduction de la structure en hélice α et une augmentation de la structure en spirale, ce qui indique que le graphène peut renforcer l'inclinaison du prion à mal se replier. Pour mieux comprendre le mécanisme du changement de conformation du prion sous l'effet du graphène, nous avons effectué des simulations MD de tous les atomes dans un solvant explicite. Nos simulations suggèrent que la protéine prion peut être rapidement et étroitement adsorbée sur le graphène avec un faible réarrangement conformationnel et qu'elle peut se réorienter lorsqu'elle s'approche de la surface. La force de Van der Waals dirige le processus d'adsorption. Dans l'induction du graphène, les régions des boucles H1 et S2-H2 du prion deviennent instables et le prion commence à se déformer partiellement. Notre travail montre que le graphène peut induire le mauvais repliement de la protéine prion et peut entraîner un risque potentiel pour les biosystèmes.

Introduction

Depuis sa découverte en 2004, le graphène a suscité une grande attention dans divers domaines, en raison de ses remarquables propriétés électriques, optiques, physiques et chimiques. Jusqu'en 2008, les applications

biomédicales potentielles du graphène ont commencé à attirer l'attention des scientifiques, notamment l'administration de médicaments/gènes, la biodétection, la bioimagerie, les matériaux antibactériens, les échafaudages biocompatibles pour la culture cellulaire, etc.⁴. Comme nous le savons, lorsque des nanoparticules (NPs) pénètrent dans un milieu biologique, les protéines et autres biomolécules entrent rapidement en compétition pour se lier à la surface des NPs, soit fortement, soit faiblement, ce qui conduit à la formation d'une couronne protéique dynamique⁵. Leur interaction avec les protéines peut perturber à la fois la structure et la fonction des protéines. Lorsque les NPs interagissent avec des enzymes biologiques, elles peuvent faire perdre aux enzymes leurs conformations d'origine et inhiber ou améliorer les fonctions des enzymes⁶. Par exemple, tel que rapporté par Chen et al. (2017), lorsque les SWCNT interagissent avec la lignine peroxydase et la maléylpyruvate isomérase, les fonctions des enzymes sont inhibées. De plus, l'interaction entre les NPs et les protéines ou peptides amyloïdes pourrait inhiber ou faciliter la formation de l'amyloïde⁷. En raison de leur surface spécifique élevée, les nanomatériaux de la famille du graphène possèdent des capacités d'adsorption de protéines potentiellement plus importantes que la plupart des autres nanomatériaux⁸. Malgré le nombre croissant d'études computationnelles portant sur l'interaction entre le graphène et les protéines, on sait peu de choses sur les effets du graphène sur la structure de la protéine de l'amylose. Ainsi, la question de savoir si le graphène inhibe ou favorise la formation d'amyloïdes reste controversée. Par conséquent, une question essentielle à résoudre avant de poursuivre les applications du graphène en biomédecine est la toxicité potentielle à court et à long terme de ce nouveau nanomatériau⁹.

Ici, pour découvrir les effets du graphène sur les protéines liées à l'amyloïde, nous avons combiné les méthodes expérimentales et de simulation de dynamique moléculaire (MD) pour étudier l'influence du graphène sur le domaine globulaire de la protéine prion cellulaire normale (PrPC). Le mauvais repliement et l'agrégation de la protéine prion entraîneront de graves maladies à prion et constituent également le facteur clé pour le développement d'un diagnostic précoce et de technologies de détection très sensibles des biomolécules liées à la PrP¹⁰. Les maladies à prions¹¹ sont les seules maladies amyloïdes infectieuses connues. La conversion de la protéine prion (PrP) de sa forme cellulaire (PrPC) à sa forme pathogène (PrPSc)¹² est la procédure clé du développement des maladies à prions. Le domaine globulaire de la protéine prion cellulaire normale (PrPC) est riche en structure α -hélice. Une fois que le mauvais pliage se produit, il passe à la structure riche en feuilletts β ¹³. Ici, pour surveiller si la protéine prion se replie mal sous l'effet du graphène, on a utilisé la méthode d'extinction de la fluorescence et les spectres de dichroïsme circulaire (CD). Bien que ces méthodes expérimentales puissent nous permettre d'évaluer directement si la structure secondaire de la protéine prion va changer ou non, elles ne peuvent pas fournir le mécanisme de transition de la structure. Ainsi, afin d'explorer comment la protéine prion interagit avec le graphène et de découvrir la transition de structure de la protéine prion, la simulation de dynamique moléculaire (MD) a été réalisée. Comparée à la méthode expérimentale, la simulation de dynamique moléculaire peut fournir des

informations plus détaillées et plus dynamiques sur l'interaction entre la protéine et les nanoparticules. En outre, le changement structurel induit de la protéine par le graphène peut également être observé facilement en analysant la trajectoire de la simulation de la dynamique moléculaire.

Extraits des sections

Clonage, expression et purification de PrP117-231

Les gènes de la protéine prion (PrP117-231) ont été synthétisés par GENEWIZ, Inc. Suzhou, Chine et ont été clonés dans le plasmide dérivé pET-28b contenant 6×His tag. Le plasmide a été transformé dans des cellules compétentes de la souche BL21 (DE3) d'*Escherichia coli* (Conway et al., 1998) par choc thermique à 42 °C pendant 60 s. Les protéines prions (PrP117-231) ont été exprimées et purifiées comme décrit (Li et al., 2017). La pureté et la concentration de la protéine repliée ont été déterminées à l'aide d'un SDS-PAGE à 12 % et d'un Nanodrop 2000.

L'interaction entre le graphène et PrP117-231

En présence de différentes concentrations de graphène, les spectres de fluorescence de PrP117-231 ont été collectés et affichés dans la Fig. 2. Ici, la « ligne blanche » est l'intensité de fluorescence de PrP117-231 sans graphène. Lorsque la concentration de graphène augmente, l'intensité de fluorescence de la protéine diminue, ce qui indique que le graphène peut éteindre la fluorescence intrinsèque du prion en fonction de la concentration. En particulier, lorsque la concentration de graphène atteignait 0,10 mg/ml, l'intensité de fluorescence de la protéine diminuait.

Conclusions

Dans le présent travail, nous avons étudié les variations structurelles au niveau atomique de la PrP125-228 sur la surface du graphène afin de comprendre les effets du graphène sur la structure de la protéine amyloïde et d'explorer la biosécurité du graphène dans les applications biomédicales. Les résultats des expériences de trempe de fluorescence et de spectre de dichroïsme circulaire ont montré que l'ajout de graphène modifiait largement la structure secondaire du domaine global du prion et pouvait renforcer la tendance au mauvais repliement de la protéine amyloïde.

Remerciements

Ce travail a été soutenu par la National Natural Science Foundation of China (Grant No: 21375054) et par le Fundamental Research Funds for the Central Universities (Grant No. lzujbky-2017-k24).

References (74)

- L. Brannon-Peppas *et al.*

- Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy *Adv. Drug Deliv. Rev.*

(2004)

- L. Calzolari *et al.*
 - Influence of pH on NMR structure and stability of the human prion protein globular domain *J. Biol. Chem.*

(2003)

- L. Calzolari *et al.*
 - Influence of pH on NMR structure and stability of the human prion protein globular domain *J. Biol. Chem.*

(2003)

- C. Chen *et al.*
 - Epidemiological characteristics of human prion diseases *Infect. Dis. Poverty*

(2016)

- B. Christen *et al.*
 - Prion protein NMR structure from Tamar Wallaby (*Macropus eugenii*) Shows that the $[\beta]_2$ - $[\alpha]_2$ loop is modulated by long-range sequence effects *J. Mol. Biol.*

(2009)

- A. Elsaesser *et al.*
 - Toxicology of nanoparticles *Adv. Drug Deliv. Rev.*

(2012)

- J. J. Guo *et al.*
 - Influence of the pathogenic mutations T188K/R/A on the structural stability and misfolding of human prion protein: insight from molecular dynamics simulations *Biochim. Biophys. Acta-Gen. Subj.*

(2012)

- J. J. Guo *et al.*
 - Exploring structural and thermodynamic stabilities of human prion protein pathogenic mutants D202N, E211Q and Q217R *J. Struct. Biol.*

(2012)

- W. Humphrey *et al.*
 - VMD: visual molecular dynamics *J. Mol. Graph.*

(1996)

- S. M. Kelly *et al.*
 - How to study proteins by circular dichroism *Biochim. Biophys. Acta* (2005)
- J. E. Kim *et al.*
 - Fullerene inhibits β -amyloid peptide aggregation *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2003)
- C. M. Lee *et al.*
 - C60 fullerene-pentoxifylline dyad nanoparticles enhance autophagy to avoid cytotoxic effects caused by the β -amyloid peptide *Nanomed.: Nanotechnol. Biol. Med.* (2011)
- H. Li *et al.*
 - Carbon nanotube inhibits the formation of β -sheet-rich oligomers of the Alzheimer's amyloid- β (16-22) peptide *Biophys. J.* (2011)
- L. Liang *et al.*
 - Visual detection of prion protein based on color complementarity principle *Biosens. Bioelectron.* (2013)
- Z. Lou *et al.*
 - Molecular-level insights of early-stage prion protein aggregation on mica and gold surface determined by AFM imaging and molecular simulation *Colloids Surf. B Biointerfaces* (2015)
- Z. Lou *et al.*
 - Quick and sensitive SPR detection of prion disease-associated isoform (PrP) based on its self-assembling behavior on bare gold film and specific interactions with aptamer-graphene oxide (AGO) *Colloids Surf. B Biointerfaces* (2017)
- S. B. Prusiner *et al.*
 - Scrapie prions aggregate to form amyloid-like birefringent rods *Cell* (1983)
- J. P. Ryckaert *et al.*
 - Numerical integration of the Cartesian equations of motion of a system

with constraints: molecular dynamics of n-alkanes J. Comput. Phys.

(1977)

- L. Y. Zhang *et al.*
 - CdTe quantum dots as a highly selective probe for prion protein detection: colorimetric qualitative, semi-quantitative and quantitative detection Talanta
- (2011)
- J. Ashby *et al.*
 - Size and surface functionalization of iron oxide nanoparticles influence the composition and dynamic nature of their protein corona ACS Appl. Mater. Interfaces
- (2014)
- K. Balamurugan *et al.*
 - Exploring the changes in the structure of α -helical peptides adsorbed onto a single walled carbon nanotube using classical molecular dynamics simulation J. Phys. Chem. B
- (2010)
- K. Balamurugan *et al.*
 - Effect of curvature on the α -helix breaking tendency of carbon based nanomaterials J. Phys. Chem. C
- (2011)
- M. Baldrighi *et al.*
 - Carbon nanomaterials interfacing with neurons: an in vivo perspective Front. Neurosci.
- (2016)
- H.J.C. Berendsen *et al.*
 - Molecular dynamics with coupling to an external bath J. Chem. Phys.
- (1984)
- A. Bianco *et al.*
 - Opportunities and challenges of carbon-based nanomaterials for cancer therapy Expert Opin. Drug Deliv.
- (2008)
- A. Bobylev *et al.*
 - Fluorescence analysis of the action of soluble derivatives of fullerene C₆₀ on amyloid fibrils of the brain peptide A β (1–42) Biophysics

(2010)

- D. Case *et al.*
 - AMBER 10

(2008)

- T. Cedervall *et al.*
 - Understanding the nanoparticle–protein corona using methods to quantify exchange rates and affinities of proteins for nanoparticles Proc. Natl. Acad. Sci. USA

(2007)

- M. Chen *et al.*
 - Interaction of carbon nanotubes with microbial enzymes: conformational transitions and potential toxicity Environ. Sci.: Nano

(2017)

- K. A. Conway *et al.*
 - Accelerated in vitro fibril formation by a mutant α -synuclein linked to early-onset Parkinson disease Nat. Med.

(1998)

- S. Dominguez-Medina *et al.*
 - Adsorption and unfolding of a single protein triggers nanoparticle aggregation ACS Nano

(2016)

- D.G. Donne *et al.*
 - Structure of the recombinant full-length hamster prion protein PrP (29-C231): the N terminus is highly flexible Proc. Natl. Acad. Sci. USA

(1997)

- Y. Duan *et al.*
 - A point-charge force field for molecular mechanics simulations of proteins based on condensed-phase quantum mechanical calculations J. Comput. Chem.

(2003)

- U. Essmann *et al.*
 - A smooth particle mesh Ewald method J. Chem. Phys.

(1995)

- L. Fei *et al.*
 - Effect of nanoparticles on protein folding and fibrillogenesis Int. J.

Mol. Sci.

(2009)

◦ L. Feng *et al.*

◦ Graphene in biomedicine: opportunities and challenges Nanomedicine

(2011)

◦ J. Guo *et al.*

◦ Exploring the influence of carbon nanoparticles on the formation of β -sheet-rich oligomers of IAPP22–28 peptide by molecular dynamics simulation PLoS One

(2013)

D'autres références sont disponibles dans la version intégrale de cet article.

1 Voir <https://nouveau-monde.ca/un-adieu-a-la-virologie-edition-pour-expert/> (qui réfute la virologie), <https://nouveau-monde.ca/aveugles-par-la-pseudo-science/> (qui rappelle ce qu'est la méthode scientifique et en quoi la virologie ne la suit pas) et <https://nouveau-monde.ca/lenterrement-de-la-theorie-virale/> (qui présente notamment en première partie la méthode scientifique et les conditions nécessaires et suffisantes pour démontrer l'existence d'un lien de causalité entre deux phénomènes).

2

<https://nouveau-monde.ca/dr-david-a-hughes-quy-a-t-il-dans-les-soi-disant-vaccins-covid-19-preuves-dun-crime-mondial-contre-lhumani/>

3 Étude <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.12.057> (How graphene affects the misfolding of human prion protein: A combined experimental and molecular dynamics simulation study) – NdT

4 Brannon-Peppas et Blanchette, 2004, Feng et Liu, 2011, Gurunathan et Kim, 2016, Jarosz et al., 2016, Mendes et al., 2013, Shen et al., 2012, Zhang et al., 2012.

5 Ashby et al., 2014, Cedervall et al., 2007, Mahmoudi et al., 2011, Tenzer et al., 2011.

6 Chen et al., 2017, Merli et al., 2011.

7 Bobylev et al., 2010, Dominguez-Medina et al., 2016, Fei et Perrett, 2009, Guo et al., 2013, Kim et Lee, 2003, Kowalewski et Holtzman, 1999, Lee et al., 2011, Li et al., 2011, Linse et al., 2007, Mahmoudi et al., 2012, Podlubnaya et al., 2006.

8 Bianco et al., 2008, Sanchez et al., 2011.

9 Baldrighi et al., 2016, de Luna et al., 2016, Elsaesser et Howard, 2012, Sharifi et al., 2012.

10 Zhang et al., 2011, Lou et al., 2017 a, Lou et al., 2017 b, Kouassi et al., 2007, Liang et al., 2013, Lou et al., 2017 a, Lou et al., 2017 b.

11 Chen et Dong, 2016, de Luna et al., 2016.

12 Prusiner et al., 1983.

13 Lou et al., 2015, Sun et al., 2015, Wang et al., 2015.