

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université de Blida 1

Faculté de sciences de la nature et de la vie



Présentée pour l'obtention du diplôme du Master

En Sciences biologiques

Spécialité : Bioinformatique

Par

Mlle: CHABANE Lilia

Mlle: KERKAR Khadîdja

THEME

Modélisation moléculaire de la structure 3D de la partie extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15 : localisation de quelques mutations impliquées dans le syndrome d'USHER

Soutenu publiquement le : 23/09/2017

Membres du jury :

Mme Hamzi	MAA	Présidente	USDB
Mme Zerouti	MAA	Examinatrice	USDB
Mme Khemili-Talbi S	MCA	promotrice	UMBB
Mme Abdi S	MCA	Co-promotrice	CHU FRANTZ FANON
Mme Gussaibeia N	MCA	Invité	USDB

Résumé :

Dans ce mémoire nous nous sommes attachées à étudier la structure tridimensionnelle du domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15 impliquée dans le syndrome d'USHER, une maladie génétique caractérisée par une perte d'audition congénitale associée à une déficience visuelle progressive par rétinite pigmentaire. La structure tridimensionnelle de la PROTOCADHERINE-15 est encore mal connue, seulement trois structures de celle-ci ont été déterminées expérimentalement (4XHZ.pdb, 5T4M.pdb, 5T4N.pdb). Ce qui fait une grande barrière dans la compréhension de l'impact des mutations sur le fonctionnement de la protéine dans l'USHER. Nous avons donc un premier temps chercher des similarités entre la séquence du domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15 et les éventuels patrons avec le programme Blastp. Par la suite, nous avons utilisé trois serveurs web qui se basent sur trois méthodes de prédiction de structure 3D différentes pour modéliser celle du domaine extracellulaire de notre protéine d'intérêt la PROTOCADHERINE-15 : Swiss-model, Phyre2 et I-TASSER. La visualisation de ces structures ainsi que l'analyse de leurs similarités structurales par le calcul des RMS ont été réalisés par le logiciel PyMol.

Au moyen de l'analyse de leurs RMS et la longueur de leurs structures protéiques par rapport à celles des fragments de la PROTOCADHERINE-15 déterminées expérimentalement, nous avons pu retenir deux modèles de structures (1 et 2) générées par I-TASSER comme structures probables du domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15. La localisation des mutations impliquées dans le syndrome d'USHER dans le domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15 montre l'importance de ce domaine de la pathogénicité de cette protéine.

Les mots clés : domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15, USHER, bioinformatique, prédiction de structure tridimensionnelle, rms.

Abstract :

In this report we attempted to study the three-dimensional structure of the extracellular domain of the PROTOCADHERIN-15 implied in the syndrome of USHER, a genetic disease characterized by a loss of congenital hearing (audition) associated with a progressive visual impairment by pigmentary retinitis. The three-dimensional structure of the PROTOCADHERIN-15 is still badly known, only three structures of this one were experimentally determined (4XHZ.pdb, 5T4M.pdb, 5T4N.pdb). What makes a big barrier in the understanding of the impact of the transformations on the functioning of the protein in the USHER. We thus have a first time to look for similarity between the sequence of the extracellular domain of the PROTOCADHERIN-15 and the possible bosses with the program Blastp. Afterward, we used three Web servers which base themselves on three methods of prediction of different 3D structure to model that of the extracellular domain of our protein of interest the PROTOCADHERIN-15: Swiss-modèle, Phyre2 and I-TASSER. The display(visualization) of these structures as well as analysis of their structural similarity by the calculation of the RMS were realized by the software PyMol.

By means of the analysis of their RMS and the length of their protein structures with regard to(compared with) those of the fragments of the PROTOCADHERIN-15 determined experimentally, we were able to retain two models of structures (1 and 2) generated by I-TASSER as likely structures of the extracellular domain of the PROTOCADHERINE-15. The localization of the transformations implied in the syndrome of USHER in the extracellular domain of the PROTOCADHERINE-15 shows the importance of this domain of the pathogénicité of this protein.

The keywords: extracellular domain of the PROTOCADHERIN-15, USHER, the bio-computing, the prediction of three-dimensional structure, rms.

ملخص :

في هذه الذاكرة، ركزنا على هيكل ثلاثي الأبعاد للنطاق خارج الخلية للبروتوكاديرين-15-PROTODADHERINE (15) المتورطين في مرض أوشر (syndrome d'USHER) ، وهو مرض وراثي يتميز فقدان السمع الخلقي المرتبط بضعف البصر التدريجي من قبل التهاب الشبكية . لا يزال الهيكل ثلاثي الأبعاد للبروتوكاديرين-15 (PROTODADHERINE-15) غير مفهومة، وقد تم تحديد ثلاثة هياكل فقط تجريبيا (XHZ.pdb4 ، 5T4M.pdb ، 5T4N.pdb). وهذا يجعل حاجزا كبيرا في فهم تأثير الطفرات على وظيفة البروتين في مرض أوشر. لذلك نحن ننظر أولا للتشابه بين تسلسل المجال خارج الخلية للبروتوكاديرين 15 (PROTODADHERINE-15) والأنماط المحتملة مع برنامج Blastp . بعد ذلك استخدمنا ثلاثة خوارزميات الويب على أساس ثلاث طرق التنبؤ 3D مختلفة لنموذج المجال خارج الخلية لدينا بروتوكاديرين -15 (PROTODADHERINE-15): نموذج Swiss-model ، Phyre2 و-I-TASSER. تم تنفيذ التصور لهذه الهياكل وكذلك تحليل التشابه الهيكلي من خلال حساب رمز من قبل برنامج PyMol. وباستخدام تحليل رمزها RMS وطول هياكلها البروتينية مقارنة مع قطع البروتوكاديرين-15 (PROTODADHERINE-15) التي تم تحديدها تجريبيا، تمكنا من الاحتفاظ بنموذجين هيكليين (1 و 2) تم توليدهما بواسطة I-TASSER كهيكليين للمجال خارج الخلية للبروتوكاديرين -15. موقع الطفرات المشاركة في متلازمة مرض أوشر في مجال خارج الخلية للبروتوكاديرين-15 (PROTODADHERINE-15) يدل على أهمية هذا المجال. الكلمات الرئيسية: مجال خارج الخلية للبروتوكاديرين-15 (PROTODADHERINE-15) ، مرض أوشر ، المعلوماتية الحيوية، والتنبؤ هيكل ثلاثي الأبعاد 3D، رمز rms.

DEDICACES

Aux personnes qui me sont les plus chères ; Je remercie chaleureusement mes très chers parents pour leur patience, leur soutien, leur encouragement qu'ils m'ont offert durant toute ma vie.

Je remercie tous les membres de ma famille, qui ont toujours été là pour moi,

Je remercie mes frères Lamine et Ghanou, et ma sœur Céline pour leur encouragement.

Je remercie très spécialement ma binôme KERKAR Khadîdja, mes chères copines MEDDAH Ichrak et AISSANI Karima qui ont toujours été là pour moi.

Je tiens à remercier mon cousin Dr HEBBOUL Riad, mon ami Badreddine pour leur amitié, leur soutien inconditionnel et leur encouragement.

Enfin, je remercie tous mes Ami(e)s que j'aime tant, pour leur sincère amitié et confiance, et à qui je dois ma reconnaissance et mon attachement.

A toutes les personnes qui m'aiment et espèrent voir mon bonheur

Lilia

Je dédié ce mémoire :

A mes parents, mes frères et sœurs, mes proches qui ont été toujours présents pour moi.

A mes amies, ma binôme chabanelilia, avec qui j'ai partagé des moments très agréables.

A tous qui sont chères, proches de mon cœur, et à tous ceux qui m'aiment et aurait voulu
partager ma joie.

Khadija

Remerciement

Ce mémoire n'aurait jamais pu voir le jour sans le courage et la volonté que nous a donné le

Bon Dieu,

Veillez trouver ici le témoignage de nos profondes gratitude et l'expression de notre profond respect.

Au terme de ce travail, nous saisissons cette occasion pour exprimer nos sincères remerciements, à toute personne ayant contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

L'expression de notre haute reconnaissance s'adresse à notre promotrice Madame KHEMILITALBI Souad de nous avoir accueillie avec gentillesse et de nous avoir offert son aide avec simplicité et ouverture d'esprit ; votre gentillesse, votre rigueur scientifique, votre simplicité et votre patience nous ont fasciné. On vous remercie pour vos orientations, vos conseils et vos suggestions qui nous ont été très utiles pour ce travail et ont permis à ce que ce travail de mémoire soit agréable et très fructifiant. On sera reconnaissantes toute notre vie.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, parmi eux notre Copromotrice Madame Abdi Samia et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté de nous rencontrer et répondre à nos questions durant nos recherches.

Nous remercions à Monsieur BESSAAD Med El amine et Madame Guessaibia qui nous ont honorés et aidés beaucoup dans notre travail, on vous remercie énormément.

A Monsieur SENINET El Hadi qui nous a proposé des données et qui nous a accompagné dans le départ de notre travail.

Nous exprimons nos remerciements et notre reconnaissance à madame HAMZI qui nous a fait l'honneur de juger ce travail, recevez ici l'expression de notre profonde reconnaissance et notre profond respect.

Nous exprimons nos remerciements et notre reconnaissance à madame ZEROUTI qui nous a fait l'honneur de juger ce travail ; recevez ici l'expression de notre profonde reconnaissance et notre profond respect.

Nos remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail, grand merci.

À tous ces intervenants, nous présentons nos remerciements, notre respect et notre gratitude.

Liste des figures

Figure 1: Localisation chromosomique du gène PCDH15.....	page 7
Figure 2 : Le réseau d'interaction de la PROTOCADHERINE-15 d'après string.....	page 9
Figure 3 : Page d'accueil blastp.....	page 12
Figure 4 : Page d'accueil PDB.....	page 12
Figure 5 : Structure cristallographique du fragment de la PROTOCADHERINE-15 ayant le code pdb : 4XHZ.....	page 13
Figure 6 : Structure cristallographique du fragment de la PROTOCADHERINE-15 ayant le code pdb : 5T4M.....	page 14
Figure 7: Structure cristallographique du fragment de la PROTOCADHERINE-15 ayant le code pdb : 5T4N.....	page 15
Figure 8: Les trois structures expérimentales de la PROTOCADHERINE-15 visualisées par PyMol.....	page 16
Figure 9: Interface d'interaction de la séquence protéique PROTOCADHERINE-15 dans le serveur Swiss-modèl.....	page 17
Figure 10 : Page d'accueil Phyre2.....	page 18
Figure 11 : Page d'accueil du serveur web I-TASSER.....	page 20
Figure 12 : Page d'application PyMol.....	page 22
Figure 13 : La séquence protéique de la PROTOCADHERINE-15 sous format Fasta tirée de la banque de données UniProt.....	page 23
Figure 14 : Superposition du modèle1-I-TASSER avec le fragment 4xhz visualisée par PyMol.....	page 38
Figure 15 : Superposition du modèle1-I-TASSER avec le fragment 4xhz visualisée par PyMol.....	page 39

Figure 16: Position de délétion (p.Glu293_Gln530del) dans la séquence prédite de la PROTOCADHERINE-15 chez un patient Algérien (visualisé par PyMol).....	page 40
Figure 17 : Position d'une mutation ponctuelle (P.D435A) identifiée chez une famille pakistanaise (visualisé par PyMol).....	page 41
Figure 18: position d'une mutation P(R134Q) dans la séquence prédite par le serveur web I-TASSER (modèle 1 et 2) identifiées chez une famille espagnole (visualisé par PyMol).....	page 42
Figure 19: structure tridimensionnelle De la PROTOCADHERINE-15.....	page 58
Figure 20 : structure tridimensionnelle de la PROTOCADHERINE-15(Phyre2) modélisation par reconnaissance de repliements.....	page 59
Figure 21: PCDH15-model1-I-TASSER.pdb.....	page 61
Figure 22: PCDH15-model2-I-TASSER.pdb.....	page 61
Figure 23 : PCDH15-model3-I-TASSER.pdb.....	page 61
Figure 24 :PCDH15-model4-I-TASSER.pdb.....	page 62
Figure 25 :PCDH15-model5-I-TASSER.pdb.....	page 62
Figure 26 : visualisation de la structure 3D de 4XHZ avec PYMOL.....	page 63
Figure 27 : visualisation de la structure 3D de 5T4M avec PYMOL.....	page 63
Figure 28 : visualisation de la structure 3D de 5T4Navec PYMOL.....	page 64
Figure 29 : les réseaux d'interactions de la protocadherine-15 d'après String.....	page 64
Figure 30 : localisation chromosomique du gène MYO7A.....	page 65
Figure 31 : localisation chromosomique du gène PCDH15.....	page 66
Figure 32 : localisation chromosomique du gène USH1C.....	page 66
Figure 33 : localisation chromosomique du gène CDH23.....	page 66
Figure 34 : localisation chromosomique du gène USH1G.....	page 67
Figure 35 : localisation chromosomique du gène USH2A.....	page 67
Figure 36 : localisation chromosomique du gène USH2C.....	page68
Figure 37 : localisation chromosomique du gène USH2D.....	page 68
Figure 38 : Localisation chromosomique du gène Clarin-1.....	page 69

Liste des tableaux

Tableau I : Transmission du syndrome d'USHER	page 5
Tableau II : Les différents symptômes de syndromes d'USHER.....	page 6
Tableau III : Les résultats d'alignement de la séquence protéique PROTOCADHERINE-15 contre PDB généré par blastp.....	page 24
Tableau IV : Tableau récapitulatif des résultats de la prédiction de la structure 3D de la partie extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15.....	page 27
Tableau V : Résultats du serveur web Phyre2.....	page 31
Tableau VI : Les 5 modèles obtenus par le serveur web I-TASSER.....	page 32
Tableau VII : Les résultats des RMS entre les 13 modèles générés par Swiss-Model et les structures des fragments déterminés expérimentalement de la protocadhérine-15 dont les codes pdb sont 4XHZ et 5T4M.....	page 33
Tableau VIII: Les résultats de superposition (RMS) entre les 13 modèles entre eux générés par Swiss-model.....	page 34
Tableau IX : Les résultats de superposition (RMS) des modèles de I-TASSER avec les patrons (5T4M, 4XHZ).....	page 34
Tableau X : Les résultats de superpositions (RMS) entre les modèles par I-TASSER.....	page 35
Tableau XI : Les résultats de superposition des modèles phyre2 avec les deux patrons (4xhz et 5t4m).....	page 35
Tableau XII : Les résultats de superposition des modèles entre eux par le serveur web phyre2.....	page 36
Tableau XIII : Taille des gènes et des protéines impliquent dans le syndrome d'USHER	page 69
Tableau XIV : Les 13 modèles obtenus par le serveur web swiss-model.....	page 70
Tableau XV : Les 20 modèles obtenus par le serveur web phyre2.....	page 71

Liste des Abréviations

DFNB : Deafness B

dNTP :désoxyribonucléotides phosphate

ddNTP :didésoxyribonucléotides phosphates

DATP :desoxyadénosine triphosphate

dCTP :désoxy cytosine triphosphate

dGTP :désoxyguanosine triphosphate

dTTP : désoxy thymine triphosphate

dSNP : base de données SNP

EDTA : Ethylène diamine tétra acétate

Hz : Hertz

IRM : imagerie par résonance magnétique

MgCL₂ : chlorure de magnésium

OMIM : Online Mendelian Inheritance in Man

WES : Whole Exome Sequencing

PCR : Polymerase Chain Reaction

Q-PCR : PCR quantitative ou PCR en temps reel

USH1 : syndrome de Usher de type 1

USH2 : syndrome de Usher de type 2

USH3 : syndrome de Usher de type 3

UV : rayons ultraviolets

Pb : paire de base

PDZ : Post synapticprotein, drosophila ,Zonulaoccludens

ORL : L'oto-rhino-laryngologie ou otorhinolaryngologie

Polphen2 : polymorphism phenotyping 2

RP :rétinitepigmentaire

SIFT : short Intolerant From Intolerant

SNP : Single Nucleotide Polymorphism

TAE : Tris Acétate EDTA

OEA les oto-émissions acoustiques

PEA les potentiels évoqués auditifs

OMS : organisation mondial de santé

RP : La rétinite pigmentaire

ERG : l'électrorétinogramme

3D : tridimensionnelle

RMS : *RootMean Square*(Ecart quadratique moyen)

SOMMAIRE

Sommaire :

Résumé	
Dédicaces	
Remerciements	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
I- Introduction générale.....	1
II- Synthèse bibliographique.....	3
II-1- SYNDROME D'USHER.....	3
II-1-1- Epidémiologie.....	3
II-1-2- Symptomologie.....	3
II-1-3- Diagnostic.....	3
II-1-3-1 Etude clinique.....	3
II-1-3-2- L'étude génétique.....	4
II-1-4- Transmission.....	5
II-1-5- Les différents types du syndrome d'USHER.....	5
II-2- La PROTOCADHERINE-15.....	7
III- Matériels et méthodes	
III-1- Séquence de la PROTOCADHERINE-15.....	10
III-2- Recherche de similarité entre cible et patrons.....	10
III-3- Structure expérimentales de la PROTOCADHERINE-15.....	12
III-4- Prédiction de la structure de la PROTOCADHERINE-15.....	16
III-4-1- Modélisation comparative de la structure 3D de la PROTOCADHERINE-15 par swiss-model.....	
III-4-2- Modélisation de la structure de la PROTOCADHERINE-15 par reconnaissance de repliements par phyre2.....	17
III-4-3- Modélisation de la structure de la PROTOCADHERINE-15 par modélisation ab-initio combinées à la méthode de reconnaissance de repliements par I-TASSER.....	19
III-5- Visualisation moléculaire de la structure 3D de la PROTOCADHERINE-15	

.....	20
V- Résultats et discussions	
V-1- Prédiction de structure 3D de la PROTOCADHERINE-15.....	27
a)-Modélisation comparative de la structure protéique de la partie extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15 par swiss-model.....	29
b)-Modélisation par reconnaissance de repliement de la structure de la partie extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15 phyre2.....	30
c)-Modélisation de la structure protéique de la partie extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15 par la méthode ab-initio combinées à la reconnaissance de repliement par I-TASSER.....	32
d)-Analyse des modèles des structures prédites pour la partie extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15.....	32
VI- Conclusion.....	43
VII- Références bibliographiques.....	45
VIII- Annexe.....	49

Introduction

Un syndrome est un ensemble de signes et de symptômes qui caractérisent une maladie, une lésion ou une anomalie. Le « syndrome d'USHER » (USH) est le nom donné à la manifestation de maladies héréditaires et de naissance se traduisant par une surdité bilatérale neurosensorielle congénitale et des pertes d'intégrité oculaire causées par une rétinite pigmentaire (dystrophie).

C'est au 19^{ème} siècle, en 1858 plus précisément, que le Professeur allemand Albrecht Von Graefe, décrit pour la première fois trois patients atteints de surdité congénitale (sourds de naissance) et de rétinopathie pigmentaire évolutive associée (**Singapore et al ., 2007**). Des observations similaires avaient été faites par Liebrech qui avait examiné une population berlinoise présentant des syndromes incluant une surdité et une rétinite pigmentaire (**Libreich., 1862**). Cette dernière peut évoluer jusqu'à la perte d'une partie ou de la totalité de la vue (cécité). Cette maladie génétique affecte entre 3 à 6% de la population sourde de naissance ou ayant des troubles auditifs.

Il existe trois formes différentes du syndrome d'USHER : elles dépendent de l'âge auquel la maladie se manifeste, de la gravité de la surdité et de la présence ou non de troubles de l'équilibre (**Deafblind International DbI, 2014**).

L'USH de type 1 (USH1) est la forme la plus fréquente et la plus sévère (**Pang et al ., 2011**), caractérisée par une surdité congénitale grave à profonde, une dysfonction vestibulaire et un début pré pubertaire de perte visuelle (**Weil, et al ., 2003**). USH1 représente 30% à 40% des cas USH dans la population européenne et Elle représente environ 90% des formes cliniques et est due à une anomalie au niveau du chromosome 17 en Afrique (**Pépin et al ., 2016**). Six gènes causals ont été rapportés : MYO7A (**Weil, et al., 2003**). PCDH15 (**Smith, et al 2011**). CDH23 (**Ahmed, et al., 2001**), USH1C (**Hope, et al., 2011**), USH1G et CIB2 , codant pour la protéine moteur à base d'actine myosine VIIa (USH1B), les protéines transmembranaires PROTOCADHERINE-15 (USH1F) et cadhérine-23 (USH1D), les protéines de l'échafaudage submembrane (USH1C) les protéines et sans (USH1G) et la protéine de liaison à l'intégrité de calcium CIB2 (USH1J), respectivement.

PCDH15 a été initialement décrit pour couvrir 980 kb d'ADN génomique, et plusieurs transcriptions ont été identifiées. Le plus long transcrit (isoforme A) comprenait 33 exons et codait une protéine de 1 955 acides aminés. La PROTOCADHERINE-15 était composée d'un domaine extracellulaire avec un peptide signal et 11 répétitions de la cadhérine (ectodomains, EC), un domaine transmembranaire et un domaine cytoplasmique (CD1).

Pour l'immense majorité des protéines connues, il n'y a pas de structure 3D expérimentale, pour 1/3 la fonction n'est pas connue. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre présent travail de fin de cycle. Il a pour objectif la modélisation et la prédiction de la structure tridimensionnelle du domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15.

Ce travail a été réalisé au sein de l'université M'hamedBougarra de Boumerdes (UMBB) au niveau du laboratoire de Bioinformatique de la Faculté des Sciences.

Notre mémoire comprend trois grandes parties :

- ✓ La première représente un rappel et une synthèse des principales données bibliographiques concernant le syndrome d'USHER, ses trois types ainsi que la PROTOCADHERINE-15.
- ✓ La seconde partie, décrit brièvement la méthodologie suivie pour répondre à la problématique de ce mémoire.
- ✓ La troisième partie de ce mémoire est consacrée à la présentation et la discussion des résultats obtenus.
- ✓ Le manuscrit est achevé par une conclusion et des perspectives.

Synthèse

Bibliographique

1-Syndrome d'USHER

Le syndrome d'USHER(USH) est une affection est un désordre autosomique récessif qui associe une déficience auditive sensorineuronelle à une rétinite pigmentaire et, dans certains cas, à un dysfonctionnement vestibulaire. L'USH représente plus de la moitié des cas de sourds-aveugle héréditaire. L'USH est cliniquement et génétiquement hétérogène. Dix gènes causals différents ont été rapportés (**Smith et al.,1992**)

1-1-Épidémiologie

Les anciennes études épidémiologiques ont estimé sa prévalence à 1/25000 (**Boughnamet al., 1983**) mais des études récentes ont proposé une prévalence qui varie entre 1/6000 (**Kimberling et al.,2010**) et 1/10000 (**Hope et al., 1997**).

La prévalence du syndrome d'USHER n'est pas connue en Algérie ni dans le grand Maghreb car aucune étude épidémiologique n'a été faite sur cette pathologie.

1-2-Symptomologie

Les principaux symptômes du syndrome d'USHER sont la perte de l'ouïe, une affection oculaire appelée rétinite pigmentaire et un trouble de l'équilibre.

La surdité ou perte d'audition progressive est un terme générique désignant la diminution de l'acuité auditive. La déficience auditive peut être due à des causes génétiques, à des complications à la naissance, à certaines maladies infectieuses ou infections chroniques de l'oreille(OMS).**La rétinite pigmentaire** regroupe différentes pathologies génétiques affectant la rétine.**Le trouble de l'équilibre quant à lui** est un problème qui peut être lié à l'oreille interne, au cerveau (cervelet) ou à la proprioception qui cause une instabilité chez la personne. Celle-ci ressent des vertiges, ou des sensations de mouvement ou de flottement.Les symptômes de cette maladie varient d'une personne à l'autre et évoluent à des vitesses différentes.

1-3-Diagnostic

Le diagnostic du syndrome d'USHER est basé sur des critères cliniques et génétiques.

1-3-1-Etude clinique

Elle est faite par le médecin otorhinolaryngologie (ORL) car les premières manifestations cliniques de la maladie sont représentées par la surdité. Cette surdité est remarqu e par

l'entourage familial du patient en l'absence de réaction aux bruits ou d'orientation vers la source sonore (à partir de 6 mois), une absence ou un retard d'apparition du langage (ou un langage qui se dégrade quand il s'agit d'une surdité évolutive (**Ridalet *al.*, 2014**). Elle est perlinguale dans le cas de syndrome d'USHER de type1, l'enfant n'acquiert jamais le langage. Il est muet. S'il s'agit d'un type 2, la surdité étant moyenne ou sévère, le diagnostic est fait un peu plus tard, lorsque l'enfant est scolarisé le plus souvent. Dans le syndrome d'USHER de type3, l'atteinte de la fonction auditive débute typiquement durant les 2 premières décennies de la vie après le développement du langage, la surdité est post linguale et elle s'aggrave progressivement avec le temps. Lorsqu'une aréflexie vestibulaire touchant les fonctions d'équilibre est associée (cas de syndrome d'USHER de type1), les enfants ont un retard du développement moteur, ils tiennent leur tête et la position assise plus tard que la normale et ne commencent généralement à marcher que tardivement vers l'âge de 24 mois ou plus.

Les enfants plus âgés sont souvent victimes de traumatismes accidentels secondaires à des troubles de l'équilibre. Ils présentent des difficultés à pratiquer des activités ou des sports nécessitant un bon sens de l'équilibre.

Quant à la rétinite, il est très difficile de faire son diagnostic en début de la maladie surtout quand il n'y a pas une histoire familiale. En effet, La perte visuelle commence par la détérioration de la vision périphérique et nocturne, donc une légère cécité nocturne due à la disparition du champ visuel périphérique est le symptôme principal. Celui-ci, souvent ignoré par le malade est pris pour une maladresse par l'entourage familial.

Cette cécité devient apparente à l'âge de l'adolescence (**Lannacomeet *al.*,2003**).A un stade plus avancé, la cécité est évidente la nuit avec des difficultés de déplacement. Le patient prend conscience de la perte de son champ visuel périphérique qui évoluera vers une vision tubulaire c'est-à-dire que le patient verra comme si il regardait dans un tunnel. Au stade tardif la vision centrale sera également atteinte et la cécité devient également diurne.

1-3-2-Etude génétique

Il est ensuite soumis à une réaction de polymérisation en chaîne (PCR) qui permet d'augmenter la quantité du matériel biologique. Les produits d'amplification obtenus seront par la suite purifiés et soumis au séquençage.

Ce dernier consiste à déterminer l'ordre d'enchaînement des nucléotides, il se fait selon 2 méthodes différentes, le séquençage de l'exome ou (séquençage à haut débit(WES)) et la méthode de Sanger(**Tombran, 2007**).

1-4-Transmission

Tous les types du syndrome d'USHER sont portés par des gènes récessifs. L'héritage «récessif» signifie que la maladie doit être héritée des deux parents pour qu'elle puisse apparaître chez l'enfant. Il existe au moins dix gènes différents portant le syndrome d'USHER. Pour hériter du syndrome d'USHER, les deux parents doivent porter le même gène récessif. Normalement, les parents ne sont pas atteints du syndrome d'USHER eux-mêmes et ils ignorent qu'ils sont porteurs jusqu'à ce qu'ils aient un enfant qui soit atteint. Dans ce cas, les parents auront 25 % de risques à chaque naissance d'avoir un enfant atteint du syndrome d'USHER.

Comment ça se passe ? Chaque parent porteur d'un allèle normal et d'un allèle du syndrome d'USHER. Chaque parent transmet un de ses allèles lors de chaque conception. Voici un tableau des combinaisons génétiques possibles dont l'enfant peut hériter des parents à chaque naissance.

Tableau I: Transmission du syndrome d'USHER

Père	Mère	Enfant
Normale	Normale	Normale - pas porteur d'USHER
Normale	USHER	Porteur d'USHER - pas de symptômes
USHER	Normale	Porteur d'USHER - pas de symptômes
USHER	USHER	Atteint du syndrome d'USHER

Le résultat d'un mariage entre 2 individus apparentés (c'est-à-dire ayant un ou plusieurs ancêtres communs) est un facteur favorisant de la transmission des gènes mutés. Dans notre pays, elle est encore fortement pratiquée 38,84% (**Kourta,2007**).

1-5- Différents types du syndrome d'USHER

On distingue 3 types du syndrome d'USHER :

1-5-1- Type1

Le type 1 est la forme la plus sévère de la maladie. Le Syndrome d'USHER de type 1 entraîne une surdité profonde et un médiocre sens de l'équilibre dès la naissance. Le médiocre sens de l'équilibre peut à son tour retarder l'apprentissage de la marche et de la position assise. Les premiers symptômes de la rétinite pigmentaire (RP) peuvent être diagnostiqués avant l'âge de 10 ans. Les personnes ayant ce type du syndrome d'USHER préfèrent généralement communiquer avec le langage des signes et se considèrent faisant partie de la communauté des sourds et malentendants. (**Deafblind International (DbI) , 2014**), les gènes présents dans ce type sont : MYO7A (**Ammar et al.,2009**), PCDH15 (**Ahmed et al.,2001**),USH1C(**Verpyetal., 2000**),CDH23 et USH1G (**Weil et al.,2003**).

1-5-2-Type 2

Le syndrome d'USHER types 2 affiche également des signes de la naissance, bien que la gravité des symptômes ne soit habituellement pas aussi profonde que ceux affectés par le type 1. La Perte auditive peut être modérée à sévère à la naissance. Les Anomalies dans la visibilité commencent à se développer pendant les années de l'adolescence mais à progresser plus lentement que pour les personnes avec le type 1 (**Beobachtungen et al.,1858**). Les gènes sont impliqués dans ce type sont : USH2A (**Besnard et al.,2012**), USH2C(**Weston, 2004**), USH2D (**Aller et al., 2010**).

1-5-3-Type 3

C'est une forme plus rare du syndrome d'USHER qui a été spécifiquement reconnue en Finlande. En règle générale, les patients du type 3 ont à la naissance, une ouïe et une vision normales ou quasi normales, mais ensuite la surdité et la rétinite pigmentaire apparaissent lors de l'adolescence ou plus tard (**Deafblind International (DbI),, 2014**).

Le gène Clarin-1 (CLRN1) est le seul responsable du syndrome d'USHER du type 3 (**Joensuu et al.,2001**).

Tableau II : Les différents symptômes de syndromes d'USHER (Von GRAEFE et Vereizelte, 1858).

	TYPE I	TYPE II	TYPE III
AUDITION	Surdit�e profonde � la naissance	Surdit�e moyenne � la naissance évolutive, appareillable	Surdit�e progressive
EQUILIBRE	Retard de la marche (après 17 mois) d� � des problèmes d'équilibre qui se compensent petit � petit	Equilibre normal	Equilibre normal
VISION	Difficultés de vision nocturne dès l'enfance (4-5ans) réduction progressive du champ visuel	Difficultés de vision nocturne dès l'adolescence réduction progressive du champ visuel	Diminution de l'acuité visuelle. puis détérioration progressive du champ visuel et difficultés de vision nocturne

2- La PROTOCADHERINE-15

La PROTOCADHERINE -15 est cod e par le gène PCDH15 dont le Synonyme : USH1F est le plus répondu dans les pays du Maghreb et surtout en Algérie. Ce gène est localisé au niveau du bras long du chromosome 10 à la position 21-1(Ahmed et al 2001). Il est formé de 35 exons (Figure n 1).

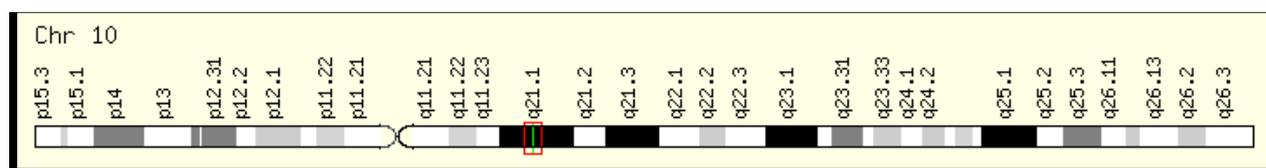


Figure n 1: Localisation chromosomique du gène PCDH15
[Genetics Home Reference]

La PROTOCADHERINE -15 est une protéine transmembranaire d'adhésion cellulaire, elle est présente au niveau de l'oreille interne et les cellules photo réceptrice de la rétine. La fonction exacte de la PROTOCADHERINE-15 dans la rétine n'a pas été déterminée mais elle

joue probablement un rôle dans le développement et le maintien des cellules et photo réceptrice. Par contre dans l'oreille interne, la PROTOCADHERINE -15 joue un rôle dans le développement des stéréocils.

La PROTOCADHERINE-15 appartient à la sous-famille epsilon de PROTOCADHERINES non groupées. Il s'agit des filaments extracellulaires qui relient les extrémités des canaux de transduction mécano-électriques des cellules stéréociliaires et de la porte dans l'oreille interne [**PMID: 24940003**]. Elle est un membre de la superfamille de la cadhérine. Les membres de cette famille codent pour des protéines membranaires intégrales qui font appel à une adhésion cellulaire indépendante du calcium.

La PROTOCADHERINE-15 dont l'entrée dans Uniprot est Q96QU1 (PCD15_HUMAN), contient 1955 acides aminés dont le peptide signal de 1er résidu jusqu'à 26ième résidu et la protéine mature du 27ième au 1955 résidu. Elle est composée de 3 domaines essentiels : un domaine extracellulaire du 27ième au 1376 résidu avec une longueur de 1350 acide aminé (aa), un domaine transmembranaire du 1377ième au 1397ième résidu avec une longueur de 21 aa et un domaine cytoplasmique (intracellulaire) avec une longueur de 558aa du 1398^{ième} au 1955ième résidu.

D'après la base de données STRING (<https://string-db.org/>), la PROTOCADHERINE-15 interagit avec la Cadhérine 23 et avec la myosine VIIA (figure n°5). Ces protéines ont des structures similaires. La PROTOCADHERINE-15 interagit aussi avec Harmonine (Weil, El-Amraoui et al., 2003), avec l'usherine et la Clarin-1 (Kleemola, Huygen et al., 2005).

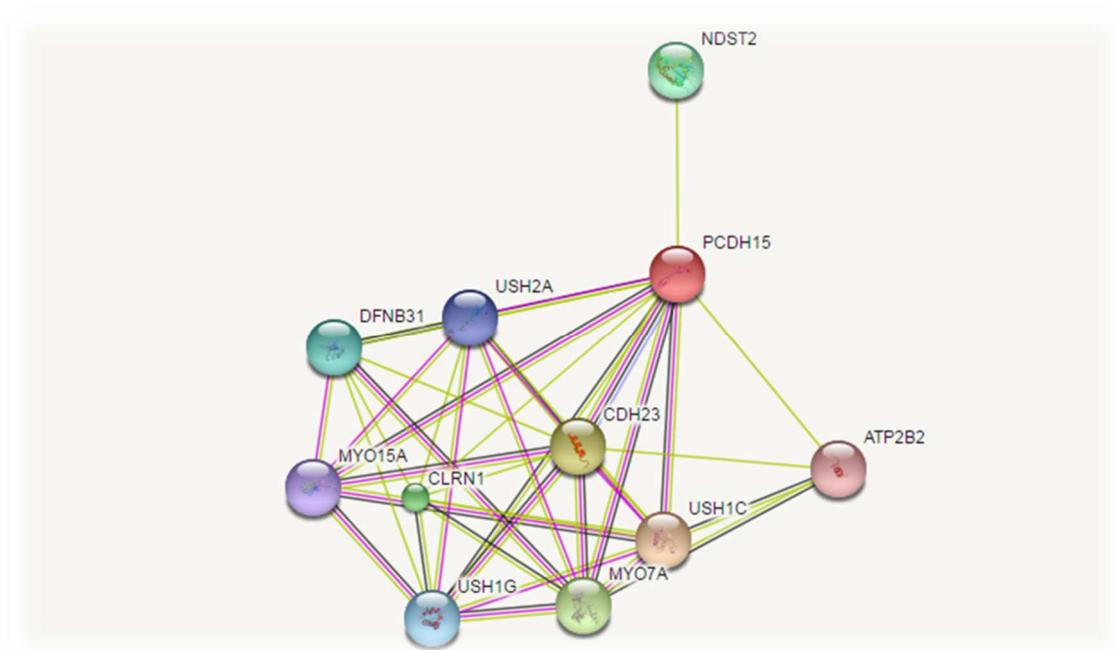


Figure n°2 : Le réseau d'interaction de la PROTOCADHERINE-15 d'après STRING.

Par ailleurs, une ou quelques mutations au niveau de la PROTOCADHERINE-15 engendrent le syndrome d'USHER. Parmi ces dernières, une délétion au niveau de l'exons 10 à 14 (c.(876+29089)-(1590+3491)del (p.Glu293_Gln530del) a été identifiée pour la 1^{ière} fois dans un patient algérien atteint du USH1F (Abdi et al., 2016). Cette mutation conduit à une protéine tronquée.

Trois mutations ponctuelles dans l'exon 11 de PCDH15 ont été identifiées et l'une d'entre elles, c.1304 A > C s'est révélée avec le phénotype de la maladie chez une famille pakistanaise avec le phénotype USHER. Cette mutation transversale c.1304 A > c conduit à une substitution d'acides aminés Aspartique en Alanine dans la position 435 (p.D 435 A) de la séquence protéique (Shamim et al., 2016).

Des mutations ponctuelles pathogènes dans le gène PCDH15 (401 G>A, p.R 453 Q dans l'exon 5/ intron 5) ont également été identifiées chez des patients Espagnols atteints du syndrome d'USHER type 1 (Jaijo et al., 2012).

Matériels

et

Méthodes

III. Matériels et méthodes

Ce travail de fin d'étude a été réalisé au sein de l'université M'hamed Bougarra de Boumerdes (UMBB) au niveau du laboratoire de Bioinformatique de la Faculté des Sciences.

Dans ce chapitre nous allons illustrer les méthodes ainsi que quelques programmes utilisés, dans le cadre de la présente étude de modélisation moléculaire de la structure 3D du domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15.

III-1- Séquence de la PROTOCADHERINE-15

Sachant que la recherche au sein de toutes les banques de données bioinformatiques se fait en anglais, le mot clé « PROTOCADHERIN-15 » a été introduit dans la banque de données UniProt pour la recherche de séquence protéique de la PROTOCADHERINE-15.

Nous avons pris celle dont l'entrée est Q96QU1 (PCD15_HUMAN). Cette séquence contient 1955 acides aminés.

La séquence de la PROTOCADHERINE-15 va faire l'objet de diverses études, commençant par une recherche de similarité.

III-2- Recherche de similarité de séquences entre cible et patrons

La recherche de similarité entre la cible (la PROTOCADHERINE-15 (Q96QU1), séquence dont la structure est inconnue et les séquences qui ont des structures 3D déterminées expérimentalement (patrons), va nous permettre d'estimer la similarité entre le couple cible/patron ainsi d'avoir un pourcentage d'identité de séquence entre les deux, et selon lequel nous allons faire le choix de la méthode de modélisation moléculaire.

Le programme d'alignement local BLAST a été choisi pour effectuer cette étape. Il utilise la séquence cible comme input afin d'effectuer cette recherche de similarité au sein de la banque de données « *Protein Data Bank-PDB* » (<http://www.rcsb.org>) étant donné que les structures des éventuels patrons sont stockées dans la PDB), et calcule au même temps des pourcentages d'identité entre chaque couple de séquences cible-patrons similaires.

III-2-1-Principe de BLAST

BLAST (Altschul, et *al.*, 1990) (*Basic Local Alignment Search Tool*) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) développé au National Center For Biotechnology Information (NCBI), est un programme de recherche heuristique de sous-séquences protéiques ou nucléiques similaires à une séquence donnée. Il permet de retrouver rapidement dans une banque de données les séquences présentant des similarités locales.

C'est un outil de recherche d'alignement local de base (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Il trouve des régions de similarité locale entre les séquences, compare les séquences de nucléotides ou de protéines aux bases de données séquentielles et calcule la signification statistique des correspondances.

Le programme agit comme suit : il découpe la séquence cible en mots (courtes sous-séquences). Il cherche ensuite pour chacun de ces mots, tous les voisins de même longueur ayant un score d'alignement avec le mot issu de la séquence cible supérieur à un seuil déterminé. Ces mots voisins sont utilisés pour cribler les banques de données. Chaque alignement parfait d'un mot voisin avec un mot d'une séquence de la banque de données correspond à un « match ». Le programme essaie alors d'allonger ce « match » dans les deux sens tout en calculant le score (Les insertions/suppressions sont autorisées et prises en compte) (figure3).

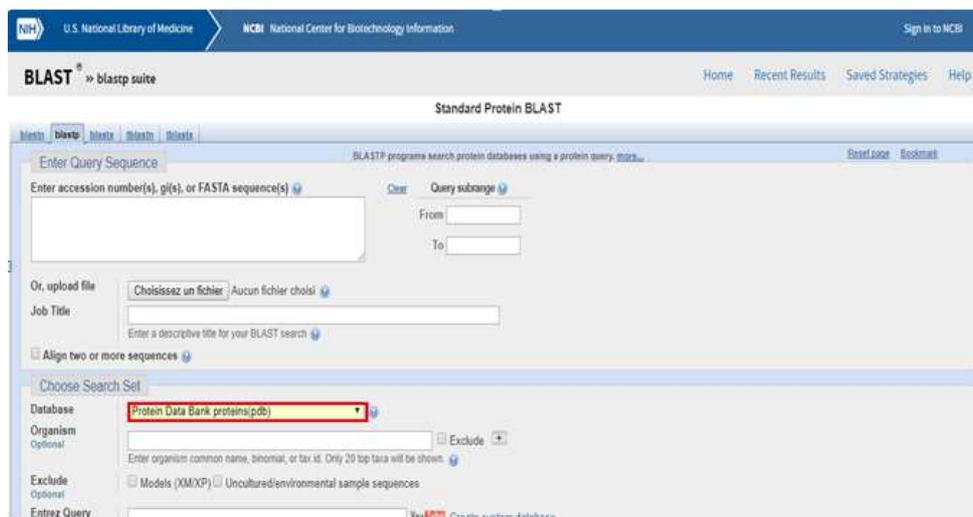


Figure 3 : Page d'accueil de Blastp.

<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastendPAGETYPE=B>

III-3- Structures expérimentales des patrons collectés de la *Protein Data Bank*

Les structures 3D des fragments de la PROTOCADHERINE-15 dont l'entrée dans Uniprot est Q96QU1 (PCD15_HUMAN) déterminées expérimentalement ont été collectées de la *Protein Data Bank* (PDB, <http://www.pdb.org>), avec les codes PDB 4XHZ, 5T4M, 5T4N respectivement.

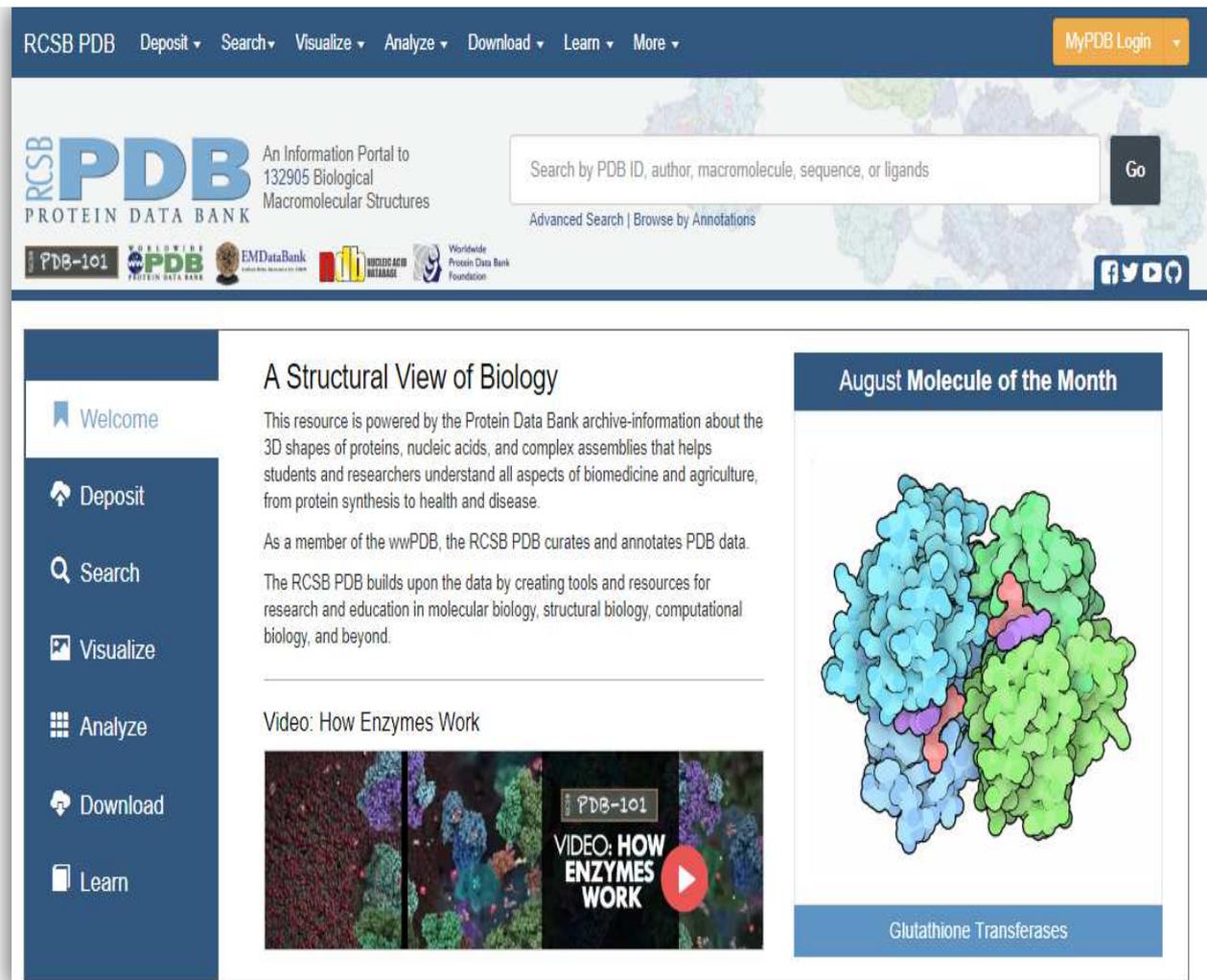


Figure 4 : Page d'accueil de PDB. (www.rcsb.org)

La structure ayant le code PDB : 4XHZ contient une seule chaîne A du 816^{ième} résidu jusqu'au 1144^{ième} résidu, obtenue par La cristallographie aux rayons X, est une technique d'analyse fondée sur la diffraction des rayons X avec une résolution est de 2.80(Å) (figure n°5).

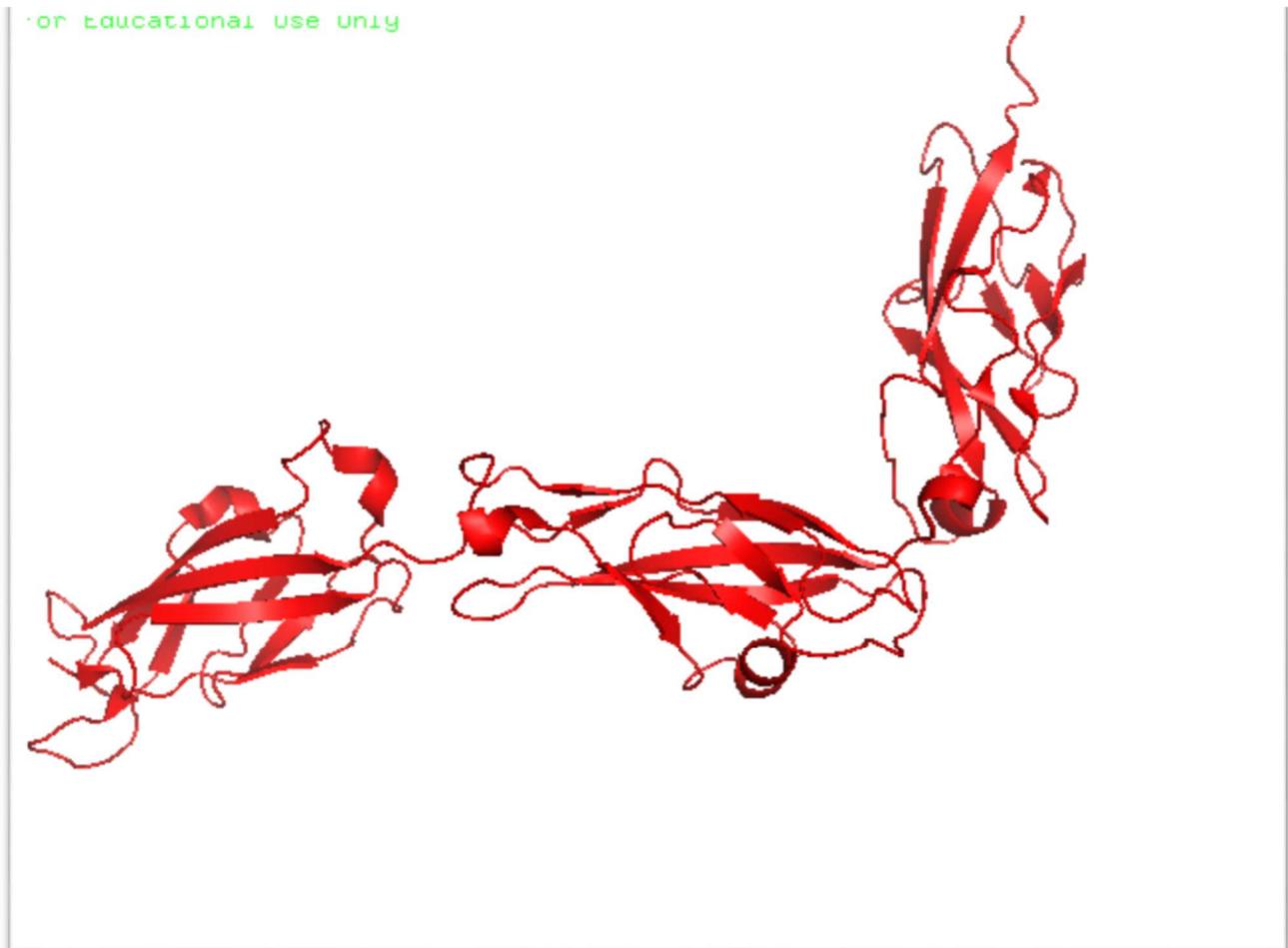


Figure 5 : Structure cristallographique sous format cartoon du fragment de la PROTOCADHERINE-15 ayant le code pdb : 4XHZ.

Les structures ayant les codes PDB 5T4M et 5T4N contiennent deux chaînes identiques A et B du 263^{ième} résidu jusqu'au 616^{ième} résidu, obtenue par cristallographie aux rayons X, avec une résolution est de 2.24 et 2.70 Å respectivement (figure n°6 et n°7).

For Educational Use Only

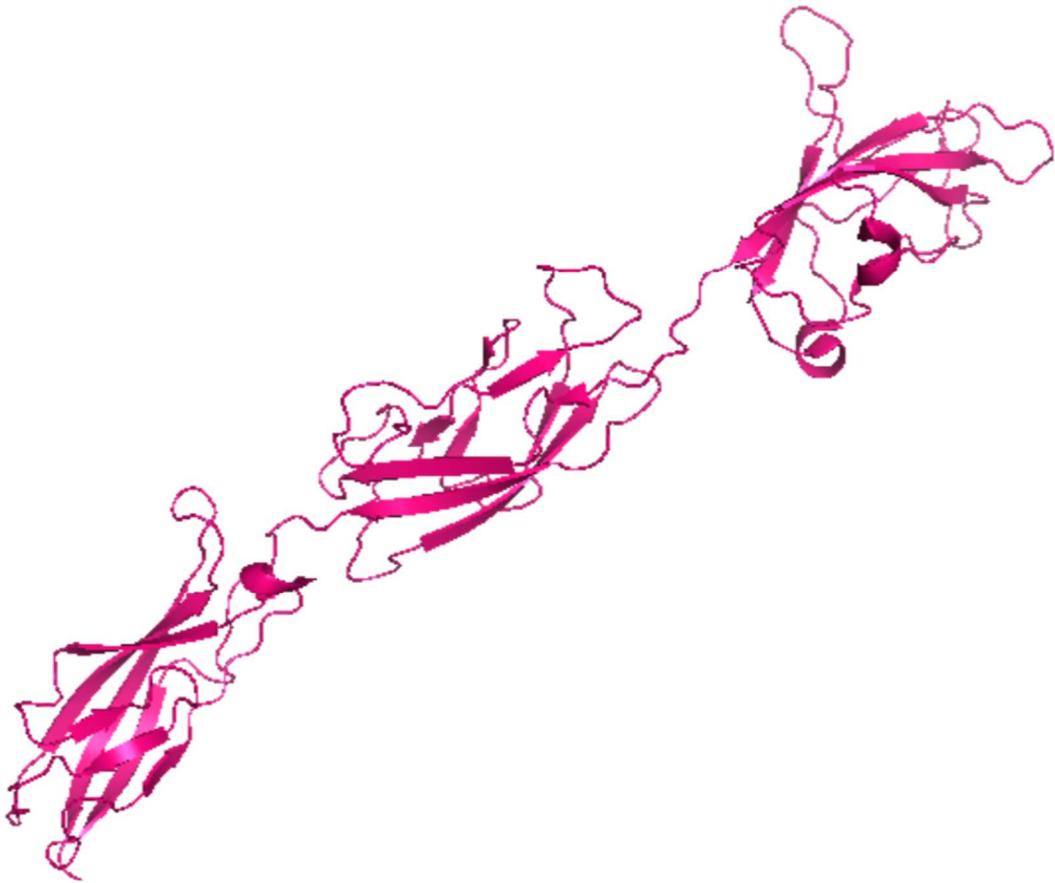


Figure n°6 : Structure cristallographique sous format cartoudu fragment de la PROTOCADHERINE-15 ayant le code pdb 5T4M.

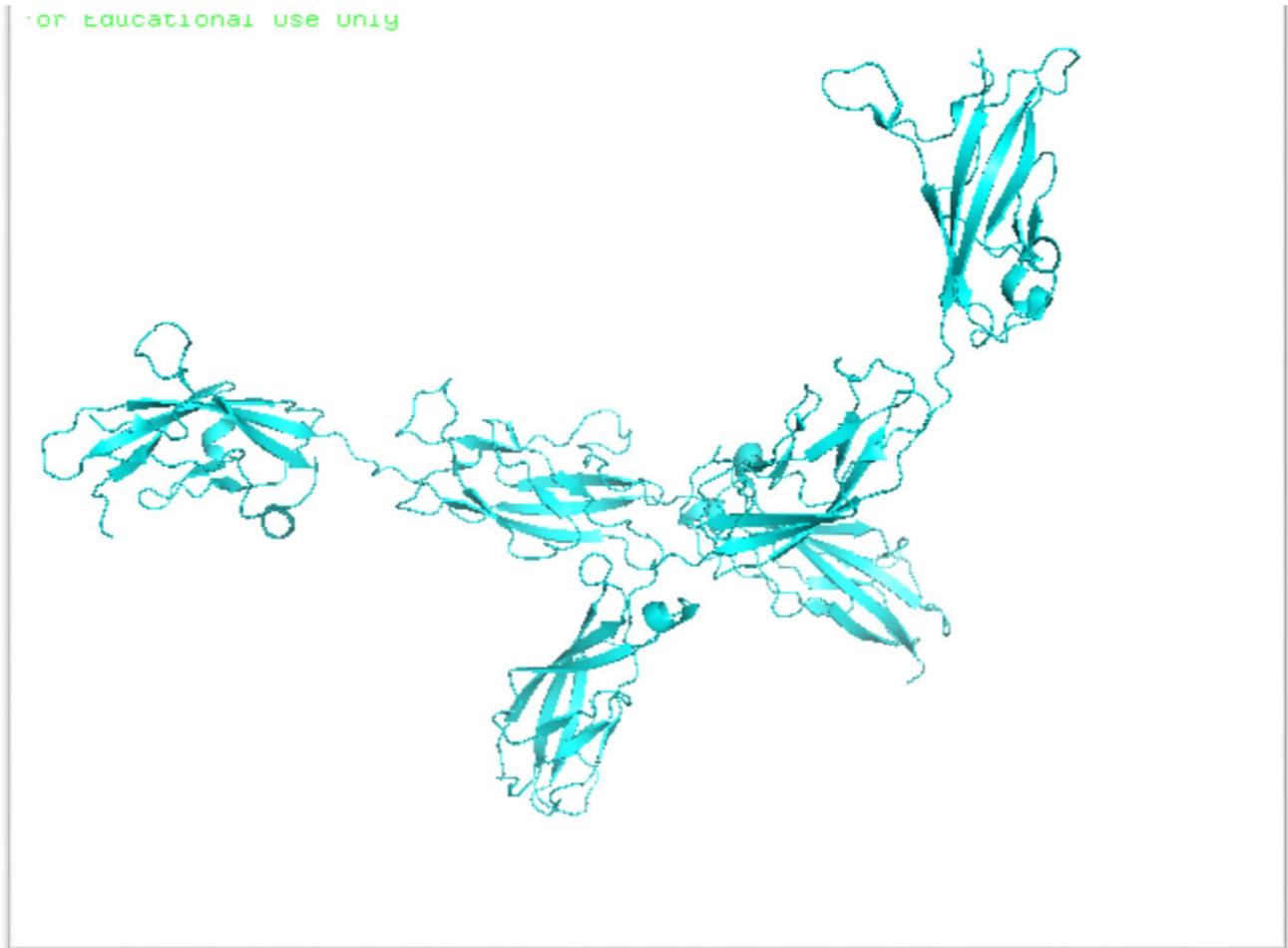


Figure n°7 : Structure cristallographique sous format cartoon du fragment de la PROTOCADHERINE-15 ayant le code pdb 5T4N.

III-4-Prédiction de la structure 3D de la PROTOCADHERINE-15

La prédiction de la structure des protéines est une étape très importante pour mieux comprendre l'architecture globale de celle-ci. Pour ce faire, on a fait recourir à trois méthodes afin de prédire la structure 3D de la PROTOCADHERINE-15 : la modélisation comparative en utilisant le serveur SWISS-MODEL, la reconnaissance de repliements en utilisant le serveur web Phyre2, et la modélisation *ab-initio* combinée à la reconnaissance de repliements par le serveur web I-TASSER.

III-4-1- Modélisation comparative de la structure de la PROTOCADHERINE-15 par Swiss-Model

Une prédiction de structure du domaine extracellulaire de la protéine PROTOCADHERINE-15 (27-1350 aa) par modélisation comparative s'est faite par le programme Swiss-Model.

SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>) est accessible *via* le serveur Web ExPASy, il se base sur la méthode de prédiction par modélisation comparative. La prédiction de la structure 3D par la modélisation comparative est fondée sur le fait que deux protéines qui ont une identité de séquence élevée adoptent un même repliement (Rost,1999 ;Baker et Sali,2001).Son principe consiste à aligner la séquence d'une protéine donnée dont la structure est inconnue (dans notre cas c'est la protéine cible qui est la PROTOCADHERINE-15) avec la séquence d'une ou plusieurs protéines dont la structure a été déterminée expérimentalement par RMN ou Rayons-X. (patrons collectés de la PDB)(Sali et al., 1993). Le serveur web Swiss-model il peut prendre quelques minutes à plusieurs heures pour que le serveur construise un modèle.

III-4-2- Modélisation de la structure de la PROTOCADHERINE-15 par reconnaissance de repliements par Phyre2

Une prédiction de structure du domaine extracellulaire de la protéine PROTOCADHERINE-15 (27-1350 aa) par reconnaissance de repliements a été effectuée par le programme Phyre2.

Phyre2 (<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/html/page.cgi?id=index>) (Lawrence, et al., 2009) (Bennett-Lovsey, et al., 2008), est un serveur web conçu pour la prédiction de structures 3D *in silico*. Le programme est basé sur une reconnaissance de repliements pour une séquence protéique de structure inconnue dans une librairie de structures connues dérivés des banques de données (PDB). Son principe consiste à enfiler la séquence de la cible (dans notre cas, le domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15) sur une bibliothèque de repliements afin de déterminer les structures qui correspondent le mieux à la séquence cible sur la base d'un critère énergétique ou de score.

Phyre2 est parmi les méthodes les plus populaires pour la prédiction de la structure des protéines ayant été citées plus de 1500 fois. Comme d'autres techniques de reconnaissance

d'homologie à distance, il peut générer régulièrement des modèles de protéines fiables lorsque d'autres méthodes largement utilisées telles que [PSI-BLAST](#) ne peuvent pas.

Les serveurs Phyre2 prédit la structure tridimensionnelle d'une séquence protéique en utilisant les principes et les techniques de la modélisation homologique. Parce que la structure d'une protéine est plus conservée en évolution que sa séquence d'acides aminés.

III-4-3- Modélisation de la structure de la PROTOCADHERINE-15 par la méthode *ab-initio* combinée à la méthode de reconnaissance de repliements par I-TASSER

Nous avons soumis la séquence sous format FASTA du domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15 (27-1350 aa) au serveur web **I-TASSER** (*Iterative Threading ASSEmblYRefinement*) pour prédire sa structure tridimensionnelle.

À partir de la séquence d'acides aminés des protéines cibles, I-TASSER génère d'abord des modèles structurels atomiques complets à partir de multiples alignements de filetage et des simulations itératives d'assemblage structurel suivies d'un raffinement de structure à niveau atomique. Les utilisateurs de ce serveur web sont tenus d'enregistrer leur adresse électronique institutionnelle à l'adresse <http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER/registration.html>. Après l'inscription, un mot de passe est envoyé à l'utilisateur, ce qui permet à l'utilisateur de soumettre et de gérer son travail.

- 1) Ouvrez un navigateur Web et accédez à l'URL <http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER/>, qui est la page de soumission d'I-TASSER.
- 2) Copiez et collez la séquence d'acides aminés dans la boîte de saisie. Alternativement, l'utilisateur peut enregistrer la séquence dans un fichier pour uploader en cliquant sur le bouton Parcourir.
- 3) Fournissez l'adresse e-mail enregistrée pour recevoir le résultat et son mot de passe associé.
- 4) Fournissez un nom pour la protéine,
- 5) Cliquez sur le bouton Exécuter I-TASSER pour envoyer le travail. Lors de la soumission, un identifiant d'emploi et une URL seront affectés à l'utilisateur pour suivre l'état de la modélisation.

- 6) Recevez les résultats de la modélisation par e-mail. Pour une protéine avec ~ 400 résidus, il faut 10 à 24 heures pour recevoir l'ensemble complet des résultats de modélisation après la soumission.

III-5-Visualisation moléculaire de la structure tridimensionnelle de la PROTOCADHERINE-15 et mesure de la similarité structurale

Le logiciel PyMOL(<http://pymol.sourceforge.net/>;DeLano, 2002) a été utilisé pour visualiser toutes les structures 3D de la PROTOCADHERINE-15.

PyMOL(<https://pymol.org/dsc/>) est un logiciel de visualisation moléculaire, utilisé pour visualiser les structures des protéines étudiées, c'est un logiciel libre distribué sous licence Python. Ce logiciel a de nombreuses fonctionnalités, telles que :

- Visualisation de structures moléculaires et d'objets géométriques en 3D.
- Animation dynamique des molécules.
- Outil pour le chargement de structures depuis le site de la *Protein Data Bank*.
- Manipulation de plusieurs molécules d'une manière conjointe ou indépendante.
- Nombreux styles de visualisation moléculaire.

Grâce à sa fonction « *align* », PyMol a été utilisé pour mesurer la similarité structurale en calculant le « RMS »(*Root Mean Square*) entre les modèles de la PROTOCADHERINE-15 prédites et les fragments de structure de la PROTOCADHERINE-15 déterminés expérimentalement tirés de *ProteinData Bank*.

Le rms est un indicateur qui représente l'écart quadratique à la moyenne, utilisé pour quantifier combien un front d'onde dévie d'une surface de référence. La valeur du RMS (exprimée en micron) est simplement égale à racine carrée (*Root*) de la somme des carrés (*Square*) des déphasages (*écart à la moyenne*) en chaque point de mesure. Une moyenne (*Mean*) est effectuée au préalable (la moyenne porte sur la somme des carrés des écarts à la moyenne, qui est divisée par le nombre de points de mesure).

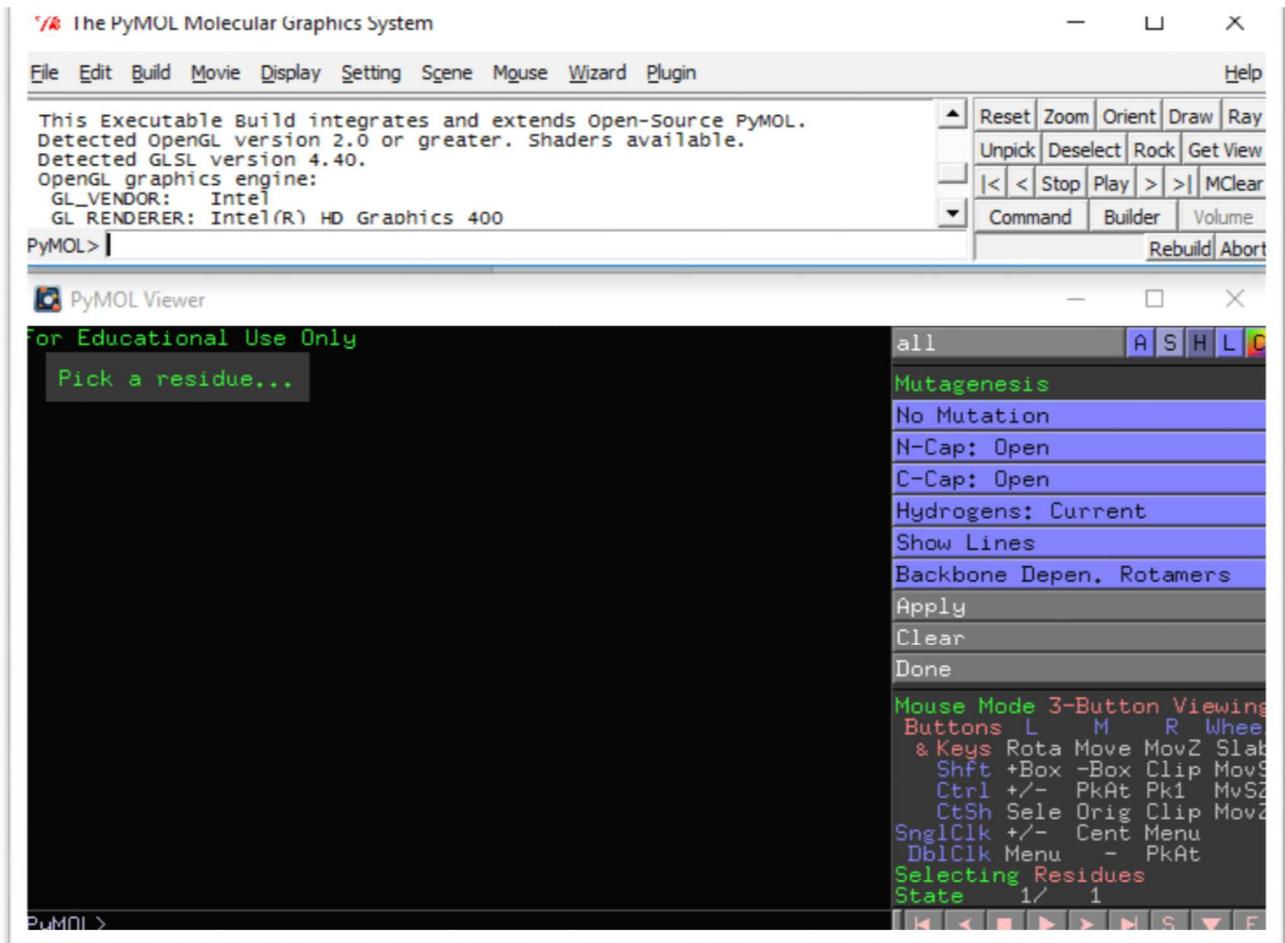


Figure n°8 : Page d'application Pymol(<https://pymol.org/dsc/>).

Résultats

et

Discussions

V- Résultats et discussions

Nous avons récolté la séquence du domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15 à partir de la base de données UniProt. Cette séquence (notre séquence cible) contient 1323aa (du 27^{ième} jusqu'au 1350^{ième} aa). Cette dernière a fait l'objet d'une prédiction de sa structure tridimensionnelle en utilisant trois différentes méthodes.

```
>sp|Q96QU1|27-1376
QYDDDCKLARGGPPATIVAIDEE SRNGTILVDNMLIKGTAGGPDPTIELSLKDNVDYWVL
MDPVKQMLFLNSTGRVLRDPPMNIHSIVVQVQCINKKVGTTIIYHEVRIVVRDRDNDNSPT
FKHESYYATVNELTPVGTTIFTFGSGDNGATDIDDGPNQIEYVIQYNPDDPTSNDTFEI
PLMLTGNIVLRKRLNYEDKTRYFVIIQANDRAQNLNERRTTTTLTVDVLGDDDLGPMLF
PCVLPVNTDRCPPTYQAAPPELRTPEELNPIIVTPPIQAIQDRNIQPPSDRPGILYSI
LVGTPEDYPRFFHMHPRTAELSLLEPVNRDFHQKFDLVIKAEQDNGHPLPAFAGLHIEIL
DENNQSPYFTMPSYQGYILE SAPVGATISDSLNTSPLRIVALDKDIEDTKDPELHFLN
DYTSVFTVTQTGITRYLTLLQPVDRREEQQTYYTFSITAFDGVQSEPVIVNIQVMDANDNT
PTFPEISYDVVYVYTDMPRGDSVIQLTAVDADEGSNGEITYEILVGAQGDFIINKTTGLIT
IAPGVEMIVGRTYALTVQAADNAPPAERRNSICTVYIEVLPPNNQSPPRFPQLMYSLEIS
EAMRVGAVLLNLQATDREGDSITYAIENGDPQRFVNLSETTGILTLGKALDRESTDYRIL
IITASDGRPDGTSTATVNIIVVTDVNDNAPVFDPYLPRNLSVVEE EANAFVGQVKATDPDA
GINGQVHYSLGNFNLF RITSNGSIYTAVKLNREVRDYELVVATDGAHVHPRHSTLTLA
IKVLDIDDNSPVFTNSTYTVLVEENLPAGTTILQIEAKDVDLGANVSYRIRSPEVKHFFA
LHPFTGELSLRLSDYEAFPDQEASITFLVEAFDIYGTMPPGIATVTVIVKDMNDYPPVF
SKRIYKGMVAPDAVKGTPITTVYAEDADPPGLPASRVRYRVDDVQFPYPASIFEVEEDSG
RVITRVNLNEEPTTIFKLVVAFDGDGPEVMSSSATVKILVLHPGEIPRFTQEEYRPPPVS
ELATKGMTVGVISAAAINQSIVYSIVSGNEEDTFGINNITGVIYVNGPLDYETRTSYVLR
VQADSLEVVLANLRVPSKSN TAKVYIEIQDENHPPVFQKKFYIGGVSE DARMFTSVLRV
KATDKDTGNYSVMAYRLIIPPIKEGKEGFVETYTGLIKTAMLFHNMRRSYFKFQVIATD
DYGKGLSGKADVLVSVVNQLDMQVIVSNVPPTLVEKKIEDLTEILDYRVQE QIPGAKVVV
ESIGARRHGDAFSL EDYTKCDLTVYAIDPQTNRAIDRNELFKFLDGKLLDINKDFQPYYG
EGGRILEIRTPEAVTSIKKRGESLGYTEGA
```

Figure 13 : La séquence protéique de la PROTOCADHERINE-15 sous format FASTA tiré de la banque de données Uniprot.

V-1- Analyse de la similarité de séquences avec le domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15 par Blastp

Tout d'abord nous avons commencé par une recherche de similarité entre cible et les différentes séquences ayant une structure tridimensionnelle par le programme blastp.

Un alignement local de la PROTOCADHERINE-15 (Q96QU1) s'est fait par le programme blastp contre les séquences stockées dans la *Protein Data Bank*. Cette étape est primordiale pour le choix de la méthode de prédiction de la structure 3D de la PROTOCADHERINE-15.

Les résultats sont apparus en trois parties, la première partie est un diagramme avec des barres colorées représentant les séquences possédant les scores les plus élevés avec notre séquence cible.

La deuxième partie représente une liste des séquences avec leurs numéros d'accèsion, le score de l'alignement, et l'*E-value* (Tableau V); la troisième partie, des alignements proprement dits de notre séquence cible avec chacune des séquences listées dans la partie 2.

Le tableau représente 86 résultats parmi eux nous citons (Tableau V):

-Les trois premières structures représentent la structure cristalline de la chaîne A de la PROTOCADHERINE-15 avec deux domaines différents (Ec3-5, Ec8-10) avec le code pdb respectivement 5t4m, 5t4n et 4xhz avec une similarité de 99% sur 26% de la séquence protéique PROTOCADHERINE-15.

-Deux structures cristallines de la chaîne B, de la cadherine-23 Ec1-2 et la PROTOCADHERINE-15 Ec1-2 avec le code pdb 4xxw, 4apx qui ont une similarité de 97% sur 22% de la séquence protéique PROTOCADHERINE-15.

-Une structure cristalline de la chaîne A, de la PROTOCADHERINE-15 Ec9-10 avec le code pdb 5kj4 qui a une similarité de 95% sur 32% de la séquence protéique PROTOCADHERINE-15.

- Une structure cristalline de la chaîne A, chez l'humain du fragment Ec2-5 avec le code pdb 5ERP qui a une similarité de 22% sur 29% de la séquence protéique PROTOCADHERINE-15.

- La chaîne A, Serine/ Thréonine, Phosphatase Z1 des Liens à l'Inhibiteur de la toxine bactérienne Microcystine-Lr avec le code pdb 5JPF qui a une similarité de 24% sur 10% de la séquence protéique PROTOCADHERINE-15.

Tableau III : Résultats d'alignement de la séquence protéique PROTOCADHERINE-15 contre la PDB généré par Blastp.

Séquence similaires à la cible	Score Total	Pourcentage des résidus alignés	Evalue	Pourcentage d'identité
La structure cristalline de la chaîne A de la PROTOCADHERINE-15 Ec3-5 <i>Homo sapiens</i> (5t4m.pdb)	728	26%	0.0	99%
La structure cristalline de la chaîne A de la PROTOCADHERINE-15 Ec3-5 <i>Homo sapiens</i> (5t4n.pdb)	725	26%	0.0	99%
La structure cristalline de la chaîne A de la PROTOCADHERINE-15 Ec8-10 <i>Homo sapiens</i> (4xhz.pdb)	661	24%	0.0	99%
La structure cristalline de la chaîne B, de la cadherine-23 Ec1-2 et la PROTOCADHERINE-15 Ec1-2	503	22%	5e-155	97%

<u><i>Mus musculus</i></u> (4xxw.pdb)				
La structure cristalline de la chaîne B, de la cadherine-23 Ec1-2 et la PROTOCADHERINE-15 Ec1-2 la forme 1 <u><i>Mus musculus</i></u> (4apx.pdb)	497	22%	1e-152	95%
La structure cristalline de la chaîne A, de la PROTOCADHERINE-15 Ec9-10 <u><i>Mus musculus</i></u> (5kj4.pdb)	477	32%	3e-144	95%
La structure de la chaîne A, PROTOCADHERINE Gamma B2 de la partie extracellulaire du domaine 1-5 de la cadherine. <u><i>Homo sapiens</i></u> (5t9t.pdb)	348	76%	3e-35	30%
La structure cristalline de la chaîne A, chez l'humain du fragment Ec2-5 (5ERP.pdb) <u><i>Homo sapiens</i></u>	31.6	29%	2e- 1.8	22%
La chaîne A, Serine/ <u>Thréonine</u> Phosphatase Z1 des Liens à l'Inhibiteur de la <u>toxine bactérienne Microcystine-Lr</u> (5JPF.pdb) <u>(candida Albicans)</u>	31.1	10%	2e- 1.9	24%
La structure cristalline de la chaîne A, de la partie N-CadherineEctodomaine chez la souris <u><i>Mus musculus</i></u> (3Q2W.pdb)	267	83%	2e- 32	31%
La structure de la chaîne A, PROTOCADHERINE Gamma A9 de la partie extracellulaire du domaine 1-5 de la cadherine <u><i>Homo sapiens</i></u> (5szn.pdb)	422	64%	9e-33	33%

D'après ce résultat, nous pouvons déduire que la protéine PROTOCADHERINE-15 n'a pas de structure 3D déterminée expérimentalement. Cependant, la structure de quelques fragments qui représentent 26% (5t4m.pdb), 26% (5t4n.pdb) et 24% (4xhz.pdb) de la séquence de la PROTOCADHERINE-15 chez l'humain ont été déterminées par cristallographie aux rayons X et par RMN, respectivement. Elles représentent un alignement significatif avec des E-value nulles.

Les structures 4xxw.pdb, 4apx.pdb, 5kj4.pdb et 5t9t.pdb chez la souris représentent une identité moyenne (22%, 22%, 32%, 76%) avec la séquence avec la PROTOCADHERINE-15 avec des valeurs de *E-value* significatives de 5e-155, 1e-152, 3e-144, 3e-35.

Par contre, la structure de la chaîne A Desmocollin-2 Ectodomain Fragment Ec2-5 chez *Homo sapiens* et la chaîne A, Serine/ Thréonine Phosphatase Z1 des liens à l'Inhibiteur de la

toxine bactérienne Microcystine-Lr chez *Candida Albicans* représentent un alignement de séquence non significatif (aléatoire) avec un *E-value* supérieur à 1.

Ce résultat peut nous aider quant au choix de la méthode de modélisation moléculaire à utiliser pour prédire la structure 3D de la PROTOCADHERINE-15. Cette faible identité entre cible et patrons nous a poussé à utiliser les trois approches de prédiction de la structure des protéines afin de pouvoir couvrir tout le domaine extracellulaire de la séquence de la PROTOCADHERINE-15.

V-2-Prédiction de structure 3D de la protéine PROTOCADHERINE-15

Suite à la limitation des programmes, notamment à la longueur de la séquence protéique étudiée et vu la complexité de la protéine cible (la PROTOCADHERINE-15) compte tenu de sa structure transmembranaire, nous avons fait le choix de prédire la structure moléculaire tridimensionnelle de sa partie extracellulaire seulement. Nous avons donc prédit des modèles tridimensionnels en utilisant trois approches de modélisation moléculaire, à savoir la modélisation comparative, modélisation par reconnaissance de repliements et l'approche *ab initio*. Cette prédiction a été effectuée par les programmes suivants : Swiss-Model, Phyre2 et I-TASSER, respectivement. Les résultats de modélisation sont résumés dans le tableau suivant (tableau IV) :

Tableau IV : Tableau récapitulatif des résultats de la prédiction de la structure 3D de la partie extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15

Programme utilisé	Principe du programme	Nombre de Modèles générés	Nomenclatures	Longueur ou nombre d'aa
SWISS-MODEL	Modélisation comparative	13 modèles	- PCDH15-model1-Swiss.pdb (patron 5t9t_A.pdb)	241-586
			- PCDH15-model2-Swiss.pdb (patron 5t9t_B.pdb)	373-893
			- PCDH15-model3-Swiss.pdb (patron 1q5b_A.pdb)	596-1119
			- PCDH15-model4-Swiss.pdb (patron 5erd_A.pdb)	697-1221
			- PCDH15-model5-Swiss.pdb (patron 5erd_B.pdb)	483-1008
			- PCDH15-model6-Swiss.pdb (patron 3q2w_A.pdb)	698-1217
			- PCDH15-model7-Swiss.pdb (patron 5t4n_A.pdb)	237-590
			- PCDH15-model8-Swiss.pdb (patron 3q2w_A.pdb)	488-1001
			- PCDH15-model9-Swiss.pdb	519-1000

Résultats et discussions

			(patron 5t9t_B.pdb) - PCDH15-model10-Swiss.pdb (patron 5szn_A.pdb) - PCDH15-model11-Swiss.pdb (patron 5t9t_B.pdb) - PCDH15-model12-Swiss.pdb (patron 4xhz_A.pdb) - PCDH15-model13-Swiss.pdb (patron 3q2w_A.pdb)	736-1221 45-570 790-1118 282-784
Phyre2	Modélisation par reconnaissance de repliements	20 modèles	PCDH15-model1-phyre.pdb (patron 4ux8_A.pdb) PCDH15-model2-phyre.pdb (patron 5t9t_B.pdb) PCDH15-model3-phyre.pdb (patron 5dzv_B.pdb) PCDH15-model4-phyre.pdb (patron 5szn_A.pdb) PCDH15-model5-phyre.pdb (patron 4ak1_A.pdb) PCDH15-model6-phyre.pdb (patron 3q2w_A.pdb) PCDH15-model7-phyre.pdb (patron 4ux8_A.pdb) PCDH15-model8-phyre.pdb (patron 3q2v_A.pdb) PCDH15-model9-phyre.pdb (patron 5iry_B.pdb) PCDH15-model10-phyre.pdb (patron 113w_A.pdb) PCDH15-model11-phyre.pdb (patron 5iu9_A.pdb) PCDH15-model12-phyre.pdb (patron 5szq_A.pdb) PCDH15-model13-phyre.pdb (patron 5eqx_A.pdb) PCDH15-model14-phyre.pdb (patron 5k8r_A.pdb) PCDH15-model15-phyre.pdb (patron 5dzw_A.pdb) PCDH15-model16-phyre.pdb (patron 5dzy_D.pdb) PCDH15-model17-phyre.pdb (patron 5szl_C.pdb) PCDH15-model18-phyre.pdb (patron 1q5c_A.pdb) PCDH15-model19-phyre.pdb (patron 5szp_A.pdb) PCDH15-model20-phyre.pdb (patron 3ubh_A.pdb)	793-1216 696-1221 696-1218 697-1221 677-1231 697-1216 695-1233 697-1215 695-1222 691-1224 797-1218 789-1218 794-1218 796-1218 797-1216 797-1216 798-1221 691-1224 797-1216 807-1218
I-TASSER	Modélisation <i>ab initio</i> combinée à la reconnaissance de repliements	5 modèles	-PCDH15-model1-I-TASSER.pdb -PCDH15-model2-I-TASSER.pdb -PCDH15-model3-I-TASSER.pdb -PCDH15-model4-I-TASSER.pdb -PCDH15-model5-I-TASSER.pdb	1-1350 1-1350 1-1350 1-1350 1-1350

a)-Modélisation comparative de la structure protéique du domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15 par Swiss-Model

La modélisation comparative du domaine extracellulaire de la protéine PROTOCADHERINE-15 par Swiss-Model s'est basée sur la construction d'un modèle de la protéine cible PROTOCADHERINE-15 à partir de sa séquence d'acides aminés sur la base d'une structure expérimentale tridimensionnelle d'une protéine présentant une bonne conservation de séquences. Ce programme a généré 13 modèles de structures probables de la PROTOCADHERINE-15 en se basant sur sept patrons différents :

a)-PCDH15-model1-Swiss.pdb (patron 5t9t_A.pdb) : le patron est 5t9t de la PROTOCADHERINE-15 Gamma B2 de la partie extracellulaire de la cadherine domaines 1-5 (code pdb 5t9t.pdb) du 241^{ième} jusqu'au 586^{ième} aa de la protéine PROTOCADHERINE-15.

b)- PCDH15-model2-Swiss.pdb (patron 5t9t_B.pdb): le patron est 5t9t de la PROTOCADHERINE-15 Gamma B2 de la partie extracellulaire de la cadherine domaines 1-5 (code pdb 5t9t.pdb) du 373^{ième} jusqu'au 893^{ième}aa de la protéine PROTOCADHERINE-15.

C)- PCDH15-model3-Swiss.pdb (patron 1q5b_A.pdb) le patron 1q5b avec un code pdb (1q5b.pdb) du 596 jusqu'au 1119 aa de la protéine PROTOCADHERINE-15.

d)- PCDH15-model4-Swiss.pdb (patron 5erd_A.pdb) le patron 1q5b avec un code pdb (5erd.pdb) du 697 jusqu'au 1221 aa de la protéine PROTOCADHERINE-15.

e)-PCDH15-model5-Swiss.pdb (patron 5erd_B.pdb) le patron 5erd avec un code pdb (5erd.pdb) du 483 jusqu'au 1008 aa de la protéine PROTOCADHERINE-15.

f)-PCDH15-model6-Swiss.pdb (patron 3q2w_A.pdb) le patron 3q2w avec un code pdb (3q2w.pdb) du 698 jusqu'au 1217aa de la protéine PROTOCADHERINE-15.

g)-PCDH15-model7-Swiss.pdb (patron 5t4n_A.pdb) le patron 5t4n avec un code pdb (5t4n.pdb) du 237 jusqu'au 590 aa de la protéine PROTOCADHERINE-15.

h)-PCDH15-model8-Swiss.pdb (patron 3q2w_A.pdb) le patron 3q2w avec un code pdb (3q2w.pdb) du 488 jusqu'au 1001 aa de la protéine PROTOCADHERINE-15.

i)-PCDH15-model9-Swiss.pdb (patron 5t9t_B.pdb) le patron 5t9t avec un code pdb (5t9t.pdb) du 519 jusqu'au 1000 aa de la protéine PROTOCADHERINE-15.

j)-PCDH15-model10-Swiss.pdb (patron 5szn_A.pdb) le patron 5szn avec un code pdb (5szn.pdb) du 736 jusqu'au 1221 aa de la protéine PROTOCADHERINE-15.

k)-PCDH15-model 11-Swiss.pdb (patron 5t9t_B.pdb) le patron 5t9t avec un code pdb (5t9t.pdb) du 45 jusqu'au 750 aa de la protéine PROTOCADHERINE-15.

l)- PCDH15-model 12-Swiss.pdb (patron 4xhz_A.pdb) le patron 4xhz avec un code pdb (4xhz.pdb) du 790 jusqu'au 1118 aa de la protéine PROTOCADHERINE-15.

m)- PCDH15-model 13-Swiss.pdb (patron 3q2w_A.pdb) le patron 3q2w avec un code pdb (3q2w.pdb) du 282 jusqu'au 784 aa de la protéine PROTOCADHERINE-15.

b)- Modélisation par reconnaissance de repliements de la structure protéique du domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15 par Phyre2

La reconnaissance de repliements est un procédé de modélisation utilisé pour modéliser par analogie, les protéines qui ont les mêmes repliements que des protéines de structures connues, mais qui n'ont pas de protéines homologues de structure connue. Elle consiste à enfiler la séquence de la cible sur une bibliothèque de repliements afin de déterminer les structures qui correspondent le mieux à la séquence sur la base d'un critère énergétique ou de score.

Une prédiction de structure de la protéine PROTOCADHERINE-15 par reconnaissance de repliements s'est faite par le programme Phyre2 ; qui nous a généré 20 modèles de structures probables de la PROTOCADHERINE-15 on se basant sur 18 patrons selon le tableau suivant (tableau V) :

Tableau V : Les résultats du serveur web Phyre2

Modèles	Code PDB des Patrons	Nombre d'aa
PCDH15-model 1-phyre2.	4ux8.pdb	793-1216
PCDH15-model 2-phyre2.	5t9t.pdb	696-1221
PCDH15-model 3-phyre2	5dzv.pdb	696-1218
PCDH15-model 4-phyre2	5szn.pdb	697-1221

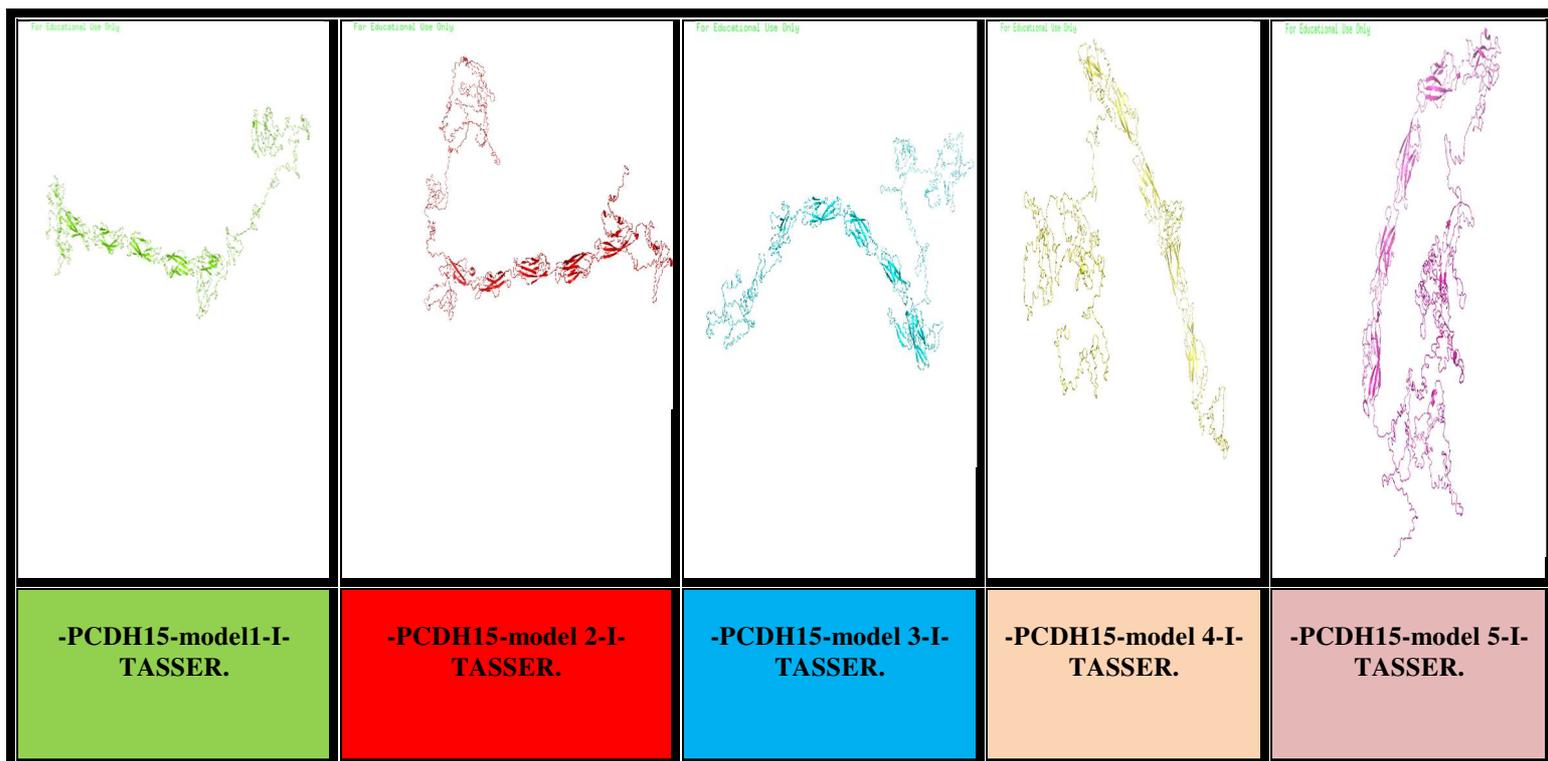
PCDH15-model 5-phyre2	4ak1.pdb	677-1231
PCDH15-model 6-phyre2	3q2w.pdb	697-1216
PCDH15-model 7-phyre2	4ux8.pdb	695-1233
PCDH15-model 8-phyre2	3q2w.pdb	697-1215
PCDH15-model 9-phyre2	4ux8.pdb	695-1233
PCDH15-model 10-phyre2	3q2v.pdb	697-1215
PCDH15-model 11-phyre2	5iry.pdb	695-1222
PCDH15-model 12-phyre2	1l3w.pdb	691-1224
PCDH15-model 13-phyre2	5iru9.pdb	789-1218
PCDH15-model 14-phyre2	5szq.pdb	789-1218
PCDH15-model 15-phyre2	5eqx.pdb	794-1218
PCDH15-model 16-phyre2	5k8r.pdb	796-1218
PCDH15-model 17-phyre2	5dzw.pdb	797-1216
PCDH15-model 18-phyre2	5dzy.pdb	797-1216
PCDH15-model 19-phyre2	5szl.pdb	798-1221
PCDH15-model 20-phyre2	3ubh.pdb	807-1218

c)-Modélisation de la structure du domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15 par la méthode *ab initio* combinée à la reconnaissance de repliements par I-TASSER

La modélisation de la structure protéique de la partie extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15 de la part I-TASSER a généré cinq modèles (tableau VIII) :

a)-PCDH15-model1-I-TASSER.pdb, (b) PCDH15-model2-I-TASSER.pdb, (c) PCDH15-model3-I-TASSER.pdb, (d)-PCDH15-model4-I-TASSER.pdb et e)- PCDH15-model5-I-TASSER.pdb.

Tableau VI : les 5 modèles obtenus par le serveur web I-TASSER



d)- Analyse des modèles des structures prédits pour le domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15

Toutes les structures issues de la modélisation moléculaire ont été visualisées par PyMol. Pour mesurer leur similarité structurale par le calcul des RMS, un alignement de structure de ces modèles a été effectué par PyMol. Le RMS mesure la distance entre les $C\alpha$ après superposition optimale des deux fragments ; plus le RMS est petit plus les modèles de structures sont proches Tableau VII.

Tableau VII : Les résultats des RMS entre les 13 modèles générés par Swiss-Model et les structures des fragments déterminés expérimentalement de la PROTOCADHERINE-15 ayant les codes pdb sont 4XHZ et 5T4M

Modèles	RMS avec 4XHZ (334aa)	Nombre d'atomes alignés	RMS avec 5T4M (348aa)	Nombre d'atomes alignés
PCDH15-modell1-Swiss.pdb	24.464	329	6.370	304
PCDH15-model 2-Swiss.pdb	0.590	80	2.097	160
PCDH15-model 3-Swiss.pdb	12.299	298	9.583	215
PCDH15-model 4-Swiss.pdb	15.640	327	7.614	236
PCDH15-model 5-Swiss.pdb	9.544	212	4.561	99
PCDH15-model 6-Swiss.pdb	16.047	328	8.808	240
PCDH15-model 7-Swiss.pdb	19.250	269	4.130	320
PCDH15-model 8-Swiss.pdb	8.060	212	2.626	76
PCDH15-model 9-Swiss.pdb	7.058	199	3.467	47
PCDH15-model10-Swiss.pdb	12.743	293	3.604	166
PCDH15-modell11-Swiss.pdb	18.598	246	6.887	313
PCDH15-modell12-Swiss.pdb	0.081	323	15.489	244
PCDH15-modell13-Swiss.pdb	16.001	285	10.677	252

Tableau VIII : Les résultats de superposition (RMS)entre les 13 modèles entre eux générés par Swiss-Model

Modèle	RMS	Nombre d'atomes alignés
PCDH15-model 1 / 3 -Swiss.pdb	39.988	524
PCDH15-model 1 / 7 -Swiss.pdb	10.502	341
PCDH15-model 7 / 13 -Swiss.pdb	10.484	260
PCDH15-model 4 / 6 -Swiss.pdb	5.278	402
PCDH15-model 10 / 13 -Swiss.pdb	14.630	392
PCDH15-model 5 / 8 -Swiss.pdb	6.189	410
PCDH15-model 3 / 9 -Swiss.pdb	9.809	360
PCDH15-model 2 / 13 -Swiss.pdb	16.078	402

Tableau IX : Les résultats de superposition (RMS) des modèles de I-TASSER avec les patrons (4xhz.pdb et 5t4m.pdb)

Modèles	5T4M	Nombre d'atomes alignés	4XHZ	Nombre d'atomes alignés
PCDH15-model1-I-TASSER.pdb (1-1350 aa)	42,507	340	9,480	269
PCDH15-model2-I-TASSER.pdb (1-1350 aa)	29,170	340	9,987	269
PCDH15-model3-I-TASSER.pdb (1-1350 aa)	36,969	347	12,352	298
PCDH15-model4-I-TASSER.pdb (1-1350 aa)	30,524	347	19,734	296
PCDH15-model5-I-TASSER.pdb (1-1350 aa)	24,284	341	27,112	324

Tableau X : Les résultats de superposition (RMS) des modèles entre eux par le serveur web I-TASSER

Modèles	RMS
PCDH15-model1 /2-I-TASSER.pdb	54.31
PCDH15-model1/3-I-TASSER.pdb	60.405
PCDH15-model1/4-I-TASSER.pdb	46.154
PCDH15-model1/5-I-TASSER.pdb	55.4

Tableau XI : les résultats de superposition (RMS) des modèles de Phyre2 avec les deux patrons (4xhz et 5t4m).

Modèles	RMS avec 4XHZ (334aa)	Nombre d'atomes alignés	RMS avec 5T4M (348aa)	Nombre d'atomes alignés
PCDH15-model1-phyre.pdb	16.918	265	7.16	182
PCDH15-model 2-phyre.pdb	10.815	263	2.475	149
PCDH15-model 3-phyre.pdb	9.272	258	6.929	221
PCDH15-model 4-phyre.pdb	12.940	282	23.701	227
PCDH15-model 5-phyre.pdb	19.434	283	34.407	277
PCDH15-model 6-phyre.pdb	16.493	319	24.761	281
PCDH15-model 7-phyre.pdb	14.845	319	9.296	239
PCDH15-model 8-phyre.pdb	15.713	228	8.675	251

PCDH15-model 9-phyre.pdb	15.825	317	9.906	245
PCDH15-model 10-phyre.pdb	16.663	318	7.952	235
PCDH15-model 11-phyre.pdb	13.626	285	7.682	221
PCDH15-model 12-phyre.pdb	11.339	265	7.840	246
PCDH15-model 13-phyre.pdb	14.956	317	6.920	223
PCDH15-model 14-phyre.pdb	11.529	269	6.516	212
PCDH15-model 15-phyre.pdb	12.439	276	5.779	205
PCDH15-model 16-phyre.pdb	12.482	286	25.423	253
PCDH15-model 17-phyre.pdb	12.706	270	4.894	199
PCDH15-model 18-phyre.pdb	15.146	318	10.257	249
PCDH15-model 19-phyre.pdb	12.290	270	5.713	209
PCDH15-model 20-phyre.pdb	15.303	277	26.710	267

Tableau XII : les résultats de superposition (RMS) des modèles entre eux du serveur webPhyre2.

Modèles	RMS	Nombre d'atomes alignés
PCDH15-model 1/13-phyre.pdb	11.355	303
PCDH15-model 2/3-phyre.pdb	2.299	442
PCDH15-model 4/6-phyre.pdb	13.210	494
PCDH15-model 7/9-phyre.pdb	5.923	434
PCDH15-model 8/11-phyre.pdb	16.962	386
PCDH15-model 17/20-phyre.pdb	28.550	339
PCDH15-model 5/10-phyre.pdb	41.015	486
PCDH15-model 14/18-phyre.pdb	15.017	391
PCDH15-model 12/14-phyre.pdb	9.089	372

Tous les modèles générés par I-TASSER couvrent la séquence de la PROTOCADHERINE-15 du 11^{ème} aa aux 1350^{ème} aa présentant des RMS faibles qui varient de 9.480-9.780 avec les structures des fragments déterminées expérimentalement. Notons que la séquence du domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15 étudiée commence du 27^{ème} résidu jusqu'au 1350^{ème} résidu.

Les 13 modèles générés par Swiss-model couvrent la séquence de la PROTOCADHERINE-15 du 1^{er} aa aux 1350^{ième}aa avec des RMS très faibles variant entre 0,590 et 3,0604 avec les structures des fragments déterminées expérimentalement.

Les 20 modèles générés par Phyre2 couvrent la séquence protéique de la PROTOCADHERINE-15 du 806^{ième} aa jusqu'au 1221^{ième}aa présentant des RMS faibles qui varient entre 2,299 – 4,894 avec les structures des fragments déterminées expérimentalement.

D'après les résultats des RMS calculés entre les structures des modèles prédits par les différents programmes de prédiction de structures 3D avec celles des fragments déterminées expérimentalement (5t4m.pdb et 4xhz.pdb), nous avons constaté que les modèles obtenus par I-TASSER présentent une meilleure similarité structurale avec des valeurs de RMS faibles comparés aux autres modèles prédits. Nous avons remarqués aussi que les modèles 2,12,9 générés par le serveur web Swiss-model et les modèles 3 et 2 générés par phyre2 présentent une meilleure similarité structurale avec les fragments déterminés expérimentalement de la PROTOCADHERINE-15(5t4m.pdb et 4xhz.pdb). Toutefois, c'est les modèles modélisés par I-TASSER qui couvrent toute la séquence du domaine extracellulaire de notre protéine d'intérêt (la PROTOCADHERINE-15). C'est pour cette raison que par la suite de notre étude, nous avons retenu la structure des modèles 1 et 2 prédits par I-TASSER comme structures 3D probables du domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15 puisque elles présentent une meilleure superposition avec les fragments déterminés expérimentalement de la PROTOCADHERINE-15(5t4m.pdb et 4xhz.pdb).

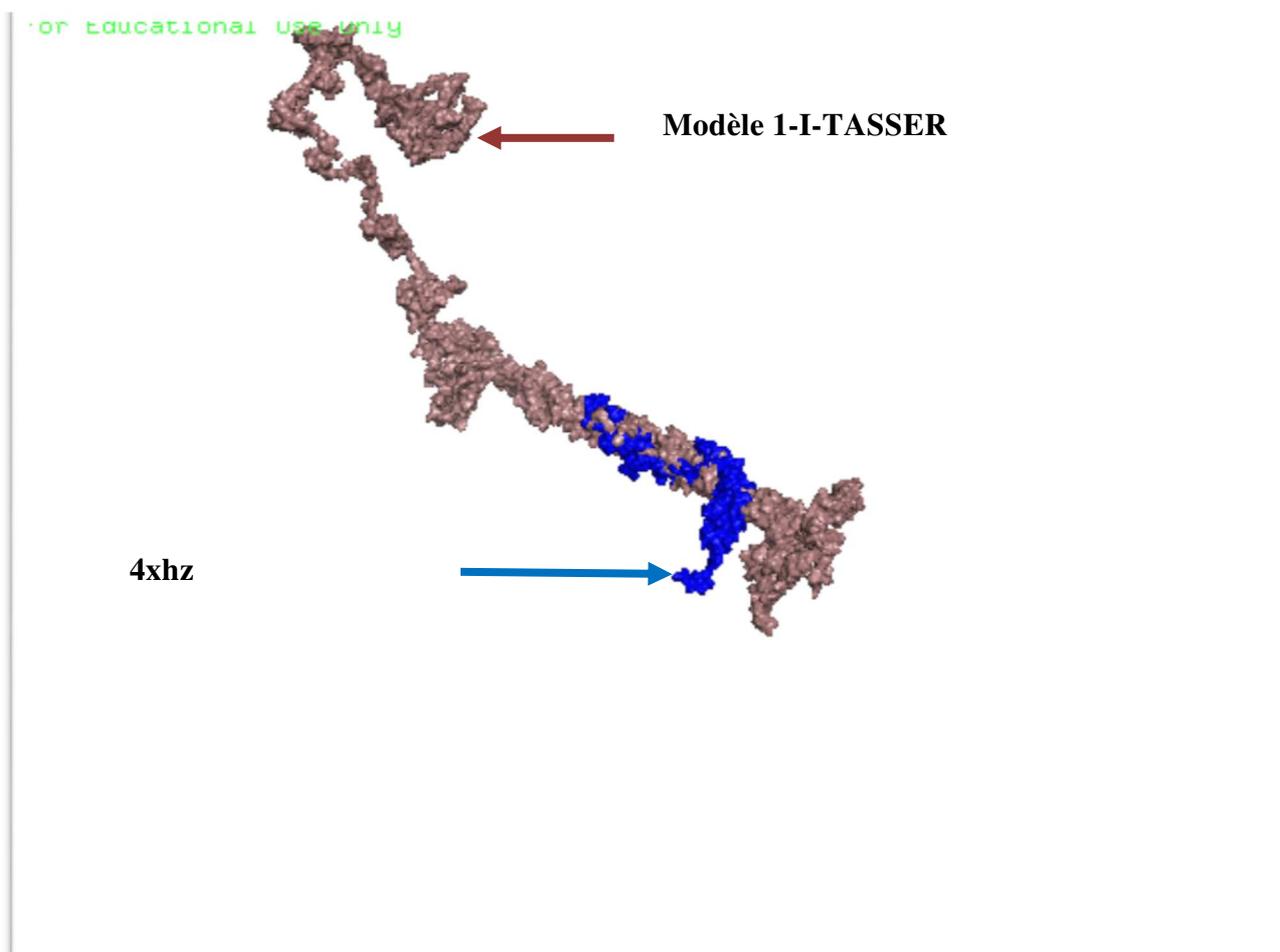


Figure 14 : Superposition du modèle 1 généré par I-TASSER avec le fragment 4XHZ.pdb visualisée par PyMol.

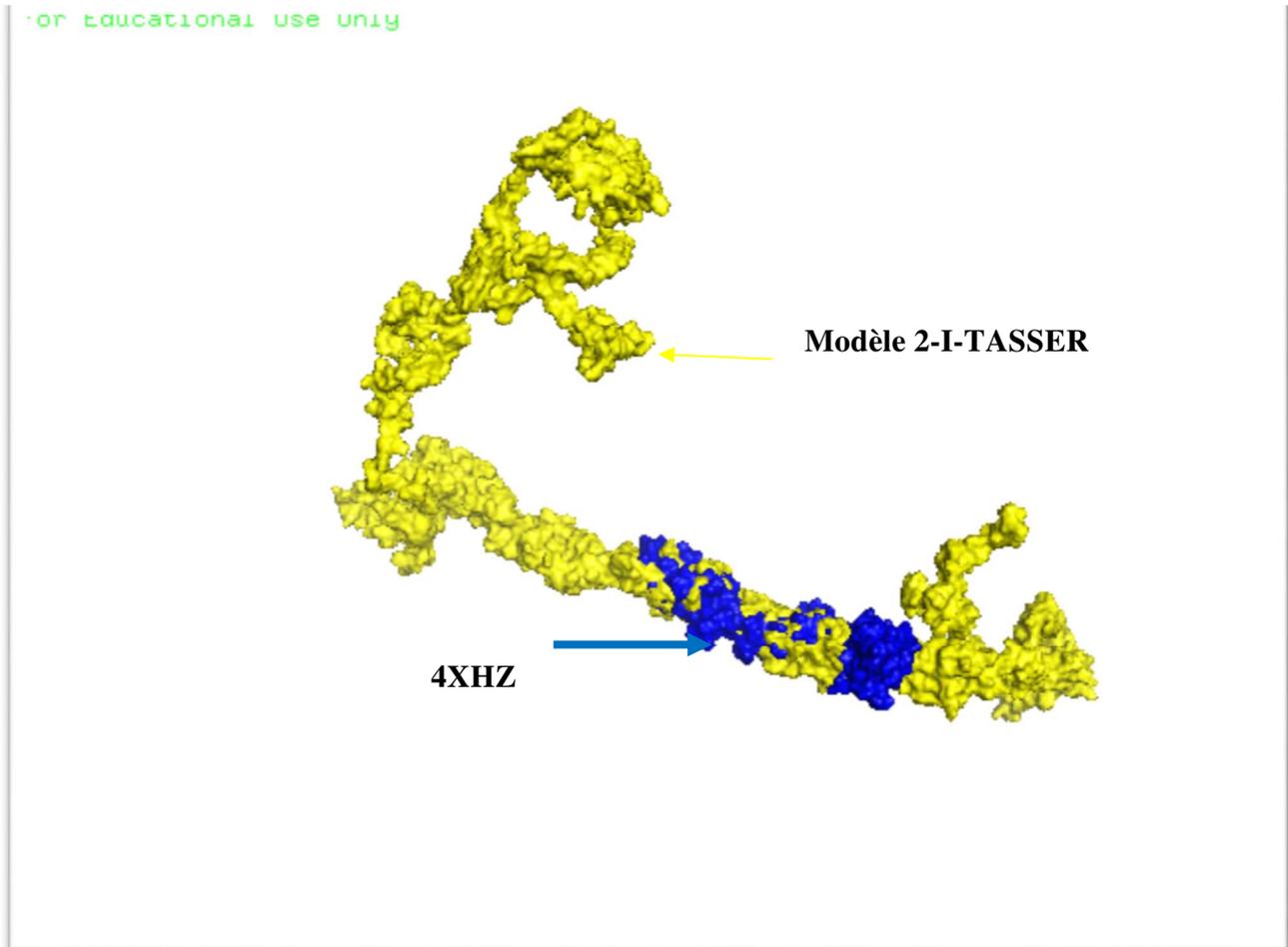


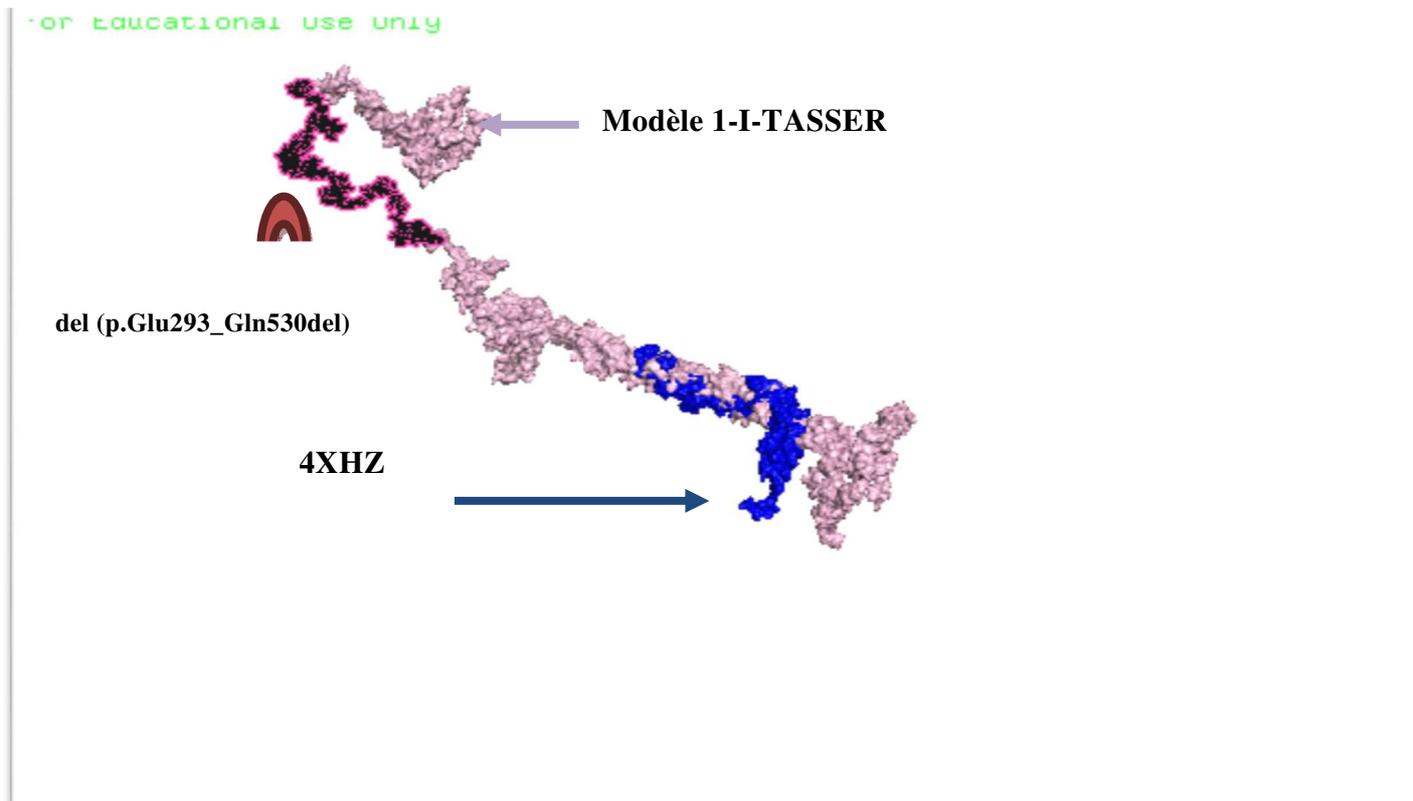
Figure 15 : Superposition du modèle 2 généré par I-TASSER avec le fragment 4XHZ.pdb visualisée par PyMol.

V-3- Localisation des mutations impliquées dans le syndrome d’USHER dans les modèles de la structure du domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15 prédits par I-TASSER

D’après la littérature, 3 types de mutations dans la séquence de la PROTOCADHERINE-15 ont été observées chez les patients atteints du syndrome d’USHER de type 1 :

- la délétion du fragment allant du Glu293 au Gln 530 chez une population algérienne (Abdi et al., 2016),
- la mutation ponctuelle de type substitution R4135Q chez une population espagnole,
- la mutation ponctuelle de type substitution D435A chez une population Pakistanaise.

Notons que ces trois types de mutations sont localisées dans le domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15. Ceci montre l'importance de l'impact de la mutation sur ce domaine extracellulaire provoquant ainsi le syndrome d'USHER. Ces mutations jouent donc un rôle primordial dans le fonctionnement et la pathogénicité de la PROTOCADHERINE-15 par la modification de ses propriétés structurales. Une localisation de ces mutations a été représentée dans les modèles de structures prédits retenus par I-TASSER (figures 16, 17 et 18).



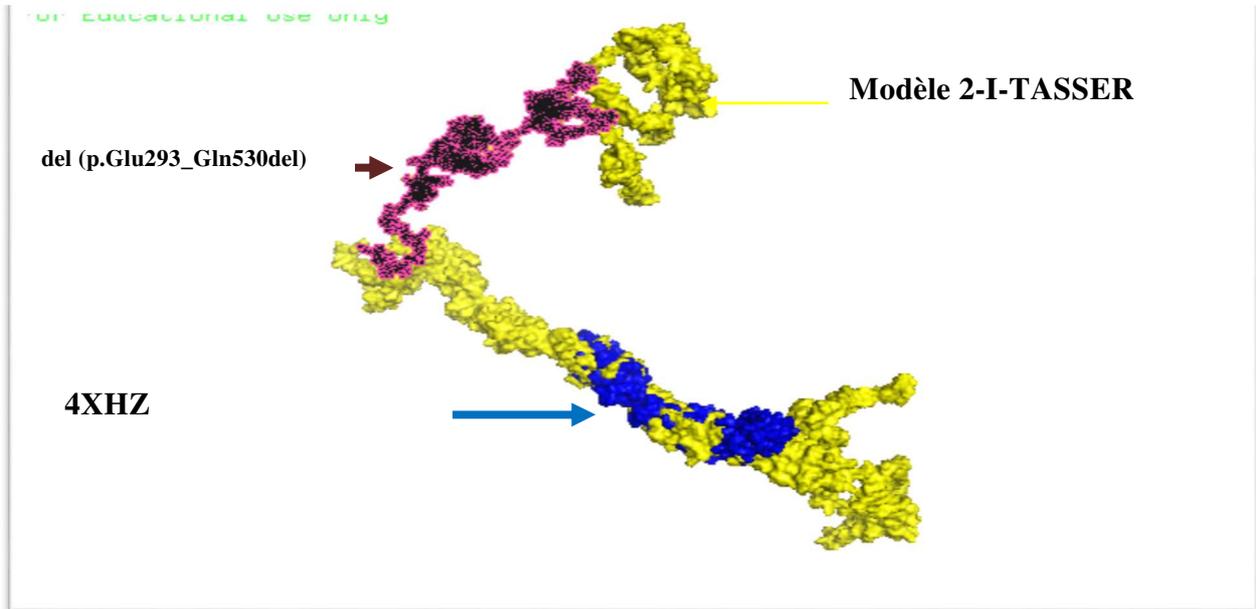
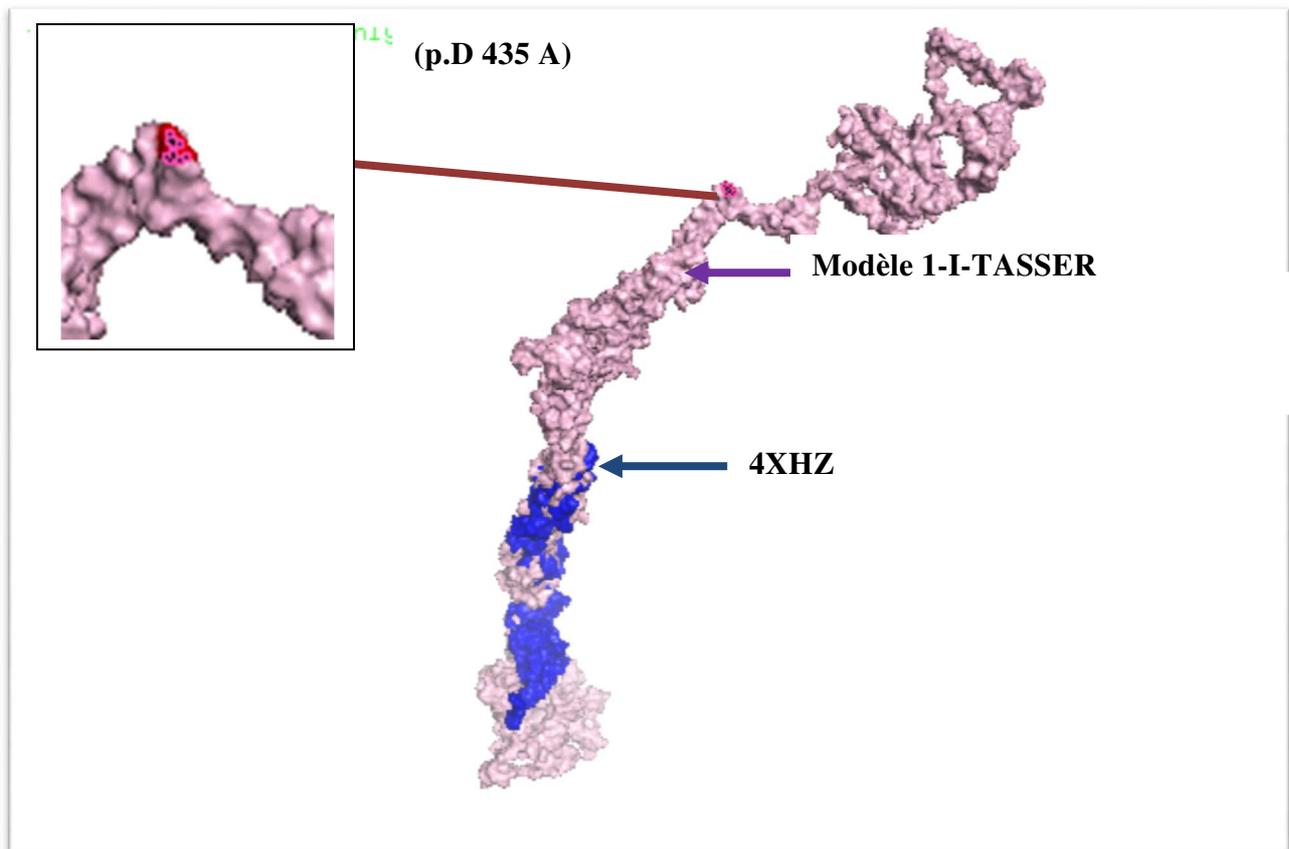


Figure 16 : Position de délétion (p.Glu293_Gln530del) dans la structure prédite par le serveur web I-TASSER (modèle 1 et 2) du domaine extracellulaire de PROTOCADHERINE-15 chez un patient Algérien.



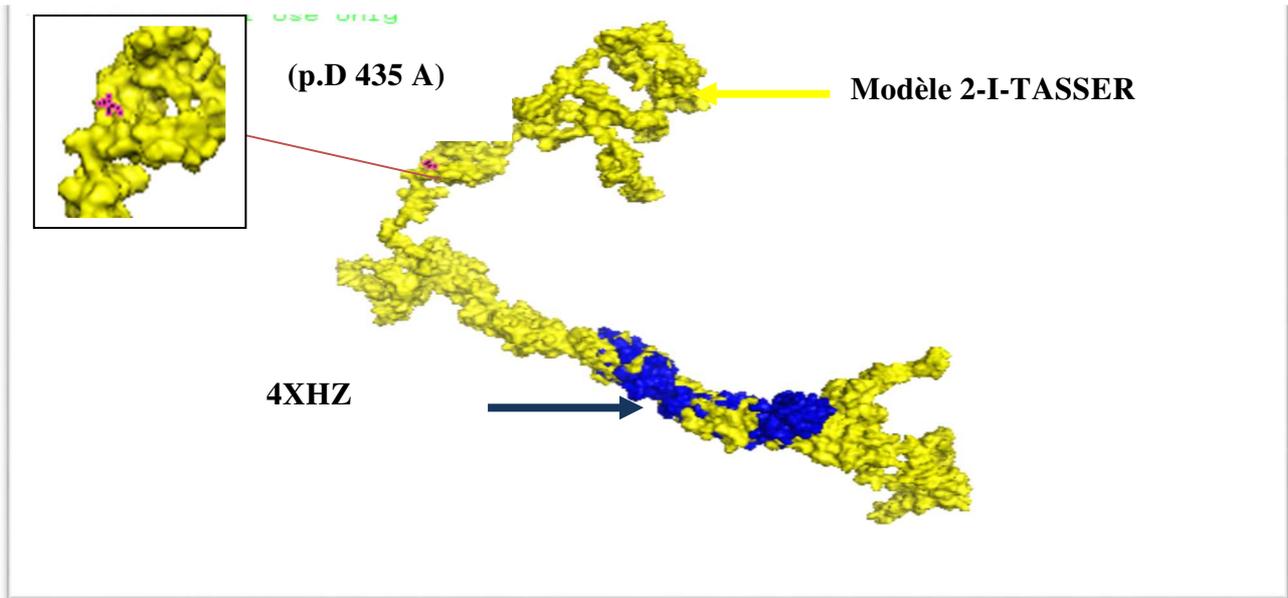
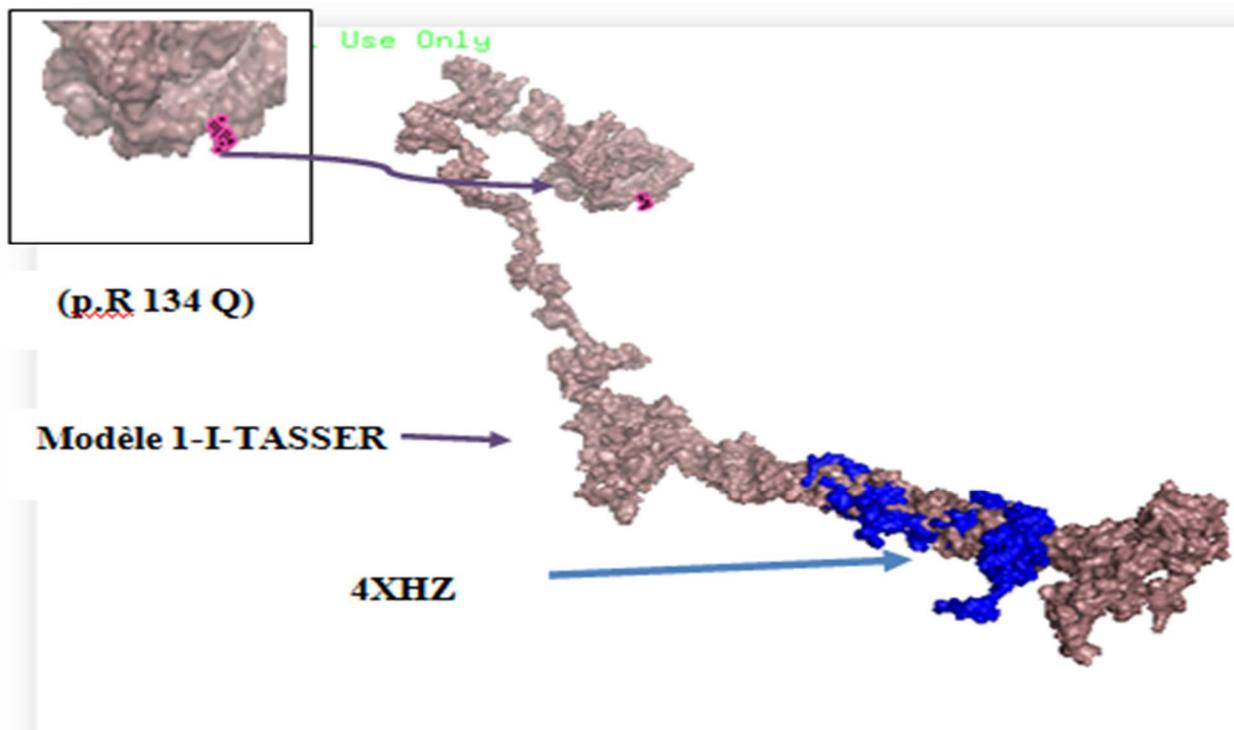


Figure 17 : Position d'une mutation ponctuelle (P.D435A) dans la structure du domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15 prédite par le serveur web I-TASSER (modèle 1 et 2) identifiée chez une famille pakistanaise (visualisé par PyMol).



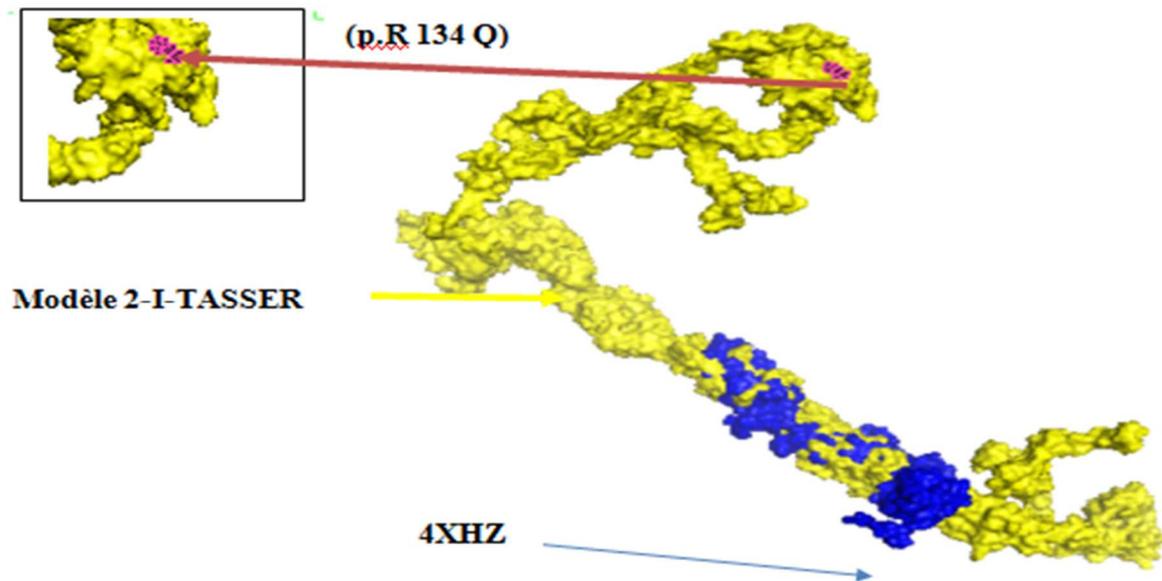


Figure 18 : Position de la mutation P(R134Q) dans la structure du domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15 prédite par le serveur web I-TASSER (modèle 1 et 2) identifiée chez une famille espagnole (visualisé par PyMol).

Conclusion

et

Perspectives

Ce mémoire avait pour ambition de modéliser la structure 3D du domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15.

Il a fallu dans un premier temps chercher des similarités entre les patrons et les modèles prédits et pour cela nous avons utilisé le programme blastp. Par la suite, nous avons utilisé trois serveurs web qui se basent sur trois méthodes de prédiction de structure 3D différentes pour modéliser celle du domaine extracellulaire de notre protéine d'intérêt la PROTOCADHERINE-15 : Swiss-model, Phyre2 et I-TASSER. La visualisation de ces structures ainsi que l'analyse de leurs similarités structurales par le calcul des RMS ont été réalisés par le logiciel PyMol.

Au moyen de l'analyse de leurs RMS et la longueur de leurs structures protéiques par rapport à celles des fragments de la PROTOCADHERINE-15 déterminées expérimentalement, nous avons pu retenir deux modèles de structure (1 et 2) générées par I-TASSER comme structures probables du domaine extracellulaire de la PROTOCADHERINE-15.

Suite à la limitation des programmes notamment sur la longueur de la séquence protéique à étudier, et vue la complexifié de la cible (PROTOCADHERINE-15), contenue dans sa structure transmembranaire, nous avons fait le choix de prédire la structure de sa partie extracellulaire en espérant que le travail va se poursuivre dans le futur proche.

Références bibliographiques

1. Ahmed ZM, Riazuddin S, Bernstein SL, Ahmed Z, Khan S, Griffith AJ, Morell RJ, Freidman TB, Wilcox ER. Mutations of the protocadherin gene PCDH15 cause Usher syndrome type 1F. *Am J Hum Genet.* 2001 Jul ;69(1) :25-34. Epub 2001 Jun 7.
2. Abdi Samia, Amel Bahloul, Asma Behlouli, Jean-Pierre Hardelin, Mohamed Makrelouf, Kamel Boudjelida, Malek Louha, Ahmed Cheknene, Rachid Belouni, Akila Zenati, Christine Petit, septembre 2016.
3. Ammar Khoja F, Faugère V, Baux D, Ginnesini C, Léonard S, Makrelouf M, Zenati A, Claustres M, Roux AF. Molecular screening of deafness in Algeria. High genetic heterogeneity involving DFNB1 and the Usher loci, DFNB2/USH1B, DFNB12/USH1D and DFNB23/USH1F. *Eur J Med Genet* 2009 Apr 16.
4. Aller Elena, Lise Larrieu, Teresa Jaijo, David Baux, Carmen Espinos, Fernando Gonzalez-Candela, Carmen Najera, Francesc Palau, Mireille Claustres, Jose M Millan. The USH2A c.2299delG mutation: dating its common origin in a Southern European population. *Eur J Hum Genet.* 2010 July ;18(7) :788-793.
5. Bork JM, Peters LM, Riazuddin S, Bernstein SL, Ahmed ZM, Ness SL, et al. Usher syndrome 1D and nonsyndromic autosomal recessive deafness DFNB12 are caused by allelic mutations of the novel cadherin-like gene CDH23. *Am J Hum Genet.* 2001;68(1):26–37. pmid:11090341
6. Bin Zhang et Steve Horvath (2005) «Un cadre général pour l'analyse pondérée des réseaux de coexpressions génétiques», *Applications statistiques en génétique et biologie moléculaire*: vol. 4: No 1, article 17
7. Bitner-Glindzicz M, Lindley KJ, Rutland P, Blaydon D, Smith VV, Milla PJ, et al. A recessive contiguous gene deletion causing infantile hyperinsulinism, enteropathy and deafness identifies the Usher type 1C gene. *Nat Genet.* 2000;26(1):56–60. pmid:10973248
8. Bolz H, von Brederlow B, Ramirez A, Bryda EC, Kutsche K, Nothwang HG, et al. Mutation of CDH23, encoding a new member of the cadherin gene family, causes Usher syndrome type 1D. *Nat Genet.* 2001;27(1):108–12. pmid:11138009
9. Besnard T, Vaché C, Baux D, Larrieu L, Abadie C, Odent S, Blanchet P, Calvas P, Hamel C, Doullfus H, Lina-Granade G, David A, Isidor B, Morin G, Malcolm S,

- Tuffery- Giraud S, Claustres M, Roux AF. Non – USH2A mutations in USH2 patients. *Hum Mutat.* 2012 Mar ;33(3):504-10.
10. BOUGHMAN JA, Veron M, Shaver KA, Usher syndrome: definition and estimate of prevalence from two high risk population. *J Chron Dis.*1983;36(8):595-603
 11. Eudy JD, Weston MD, Yao S, Hoover DM, Rehm HL, Ma-Edmonds M, et al. Mutation of a gene encoding a protein with extracellular matrix motifs in Usher syndrome type IIa. *Science.* 1998;280(5370):1753–7. pmid:9624053
 12. Ebermann I, Scholl HP, CharbellIssa P, Becirovic E, Lamprecht J, Jurklies B, et al. A novel gene for Usher syndrome type 2: mutations in the long isoform of whirlin are associated with retinitis pigmentosa and sensorineural hearing loss. *Hum Genet.* 2007;121(2):203–11. pmid:17171570
 13. Hope CI, Bunday S, Proops D, Fielder AR. Usher syndrome in the city of Birmingham--prevalence and clinical classification. *Br J Ophthalmol.* 1997;81(1):46–53. pmid:9135408
 14. HORVATH S, Zhang B, Carlson M, Lu KV, Zhu S, Felciano RM, Laurance MF, Zhao W, Shu, Q, Lee Y, Scheck AC, Liau LM, Wu H, Geschwind DH, Febbo PG, Kornblum HI , Cloughesy TF, Nelson SF, Mischel PS (2006) «L'analyse des réseaux de signalisation oncogénique dans le glioblastome identifie l'ASPM comme une nouvelle cible moléculaire», *PNAS* | 14 novembre 2006 | Vol. 103 | non. 46 | 17402-17407
 15. Joensuu T, Hamalainen R, Yuan B, Johnson C, Tegelberg S, Gasparini P, et al. Mutations in a novel gene with transmembrane domains underlie Usher syndrome type 3. *Am J Hum Genet.* 2001;69(4):673–84. pmid:11524702
 16. JoensuuTarja ,RiikkaHamalainen , Bo Yuan , Cheryl Johnson , SaaraTegelberg Paolo Gasparini, LeopoldoZelante, UIIaPirvola , LeenamaijaPakarinen , Anna-ElinaLehesjoki; Albert de la chapelle, and Eeva-MarjaSankila Mutations in a novel gene with transmembrane Domains Underlie Usher Syndrome type 3. *Am. J.Hum. Genet.* 69:673-684,2001.
 17. KIMBERLING WJ, Smith R : Gene mapping of the Usher Syndromes. *Otolaryngol Clin North Am.* 1992 ; 25(5) : 923-33
 18. Kourta.D, « les mariages interfamiliaux sont très fréquents en Algerie [Archive] »,Afrik.com, , 19 septembre 2007.

19. Langfelder P, Zhang B, Horvath S (2007) Définition de clusters à partir d'un arborescence hiérarchique: la bibliothèque DynamicTreeCut de R. Bioinformatics. Novembre / btm563
20. Lannacone A. Usher syndrome: correlation between visual field size and maximal ERG repose b-wave amplitude. *ADV Exp Med Biol* 2003 ;533 :123-131.
21. Moller CG, Kimberling WJ, Davenport SL, Priluck I, White V, Biscione-Halterman K, et al. Usher syndrome: an otoneurologic study. *Laryngoscope*. 1989;99(1):73-9. pmid:2909824.
22. Mutation screening of USH3 gene (clarin-1) in Spanish patients with Usher syndrome: low prevalence and phenotypic variability. (PMID: 15521980) Aller E. ... Millan J.M. *Clin. Genet*. 2004.
23. Pépin-Williams Atipo-Tsiba, *Pan Afr Med J*. 2016; 23: 99. Publication en ligne 2016 mars 15. French. DOI : 10.11604/pamj.2016.23.99.9025
24. Riazuddin S, Belyantseva IA, Giese AP, Lee K, Indzhukulian AA, Nandamuri SP, et al. Alterations of the CIB2 calcium- and integrin-binding protein cause Usher syndrome type 1J and nonsyndromic deafness DFNB48. *Nat Genet*. 2012;44(11):1265-71. doi: 10.1038/ng.2426. pmid:23023331.
25. RF, Kleemola, L., Huygen, PL, Joensuu, T., Sankila, EM, Pennings, RJ, Cremers, CW *Audiol. Neurootol.* (2005) [Pubmed]
26. Spandau UH, Rohrschneider K. Prevalence and geographical distribution of Usher syndrome in Germany. *Graefes Arch ClinExpOphthalmol*. 2002;240(6):495-8. pmid:12107518
27. Smith RJ, Berlin CI, Hejtmancik JF, Keats BJ, Kimberling WJ, Lewis RA, et al. Clinical diagnosis of the Usher syndromes. Usher Syndrome Consortium. *Am J Med Genet*. 1994;50(1):32-8. pmid:8160750.
28. Tombran J, Tink, Colin J Barnstable : *Retinal Degeneration : Biology, Diagnostics and therapeutics*. Humana press Inc .2007
29. USHER C. On the inheritance of retinispigmentosa, with notes of cases. *Royal London OphthalmolHospRep*. 1914 ; 19 : 130-236
30. USHER C. On the inheritance of retinispigmentosa, with notes of cases. *Royal London OphthalmolHospRep*. 1914 ; 19 : 130-236
31. Von GRAEFE A. Vereizelte Beobachtungen und Bemerkungen. Exceptionnelles verhalter des Gesichtsfeldes bei Pigmentenarter der Netzhalt. *ArchKlinOphtalmol*. 1858 ; 4 : 250-3

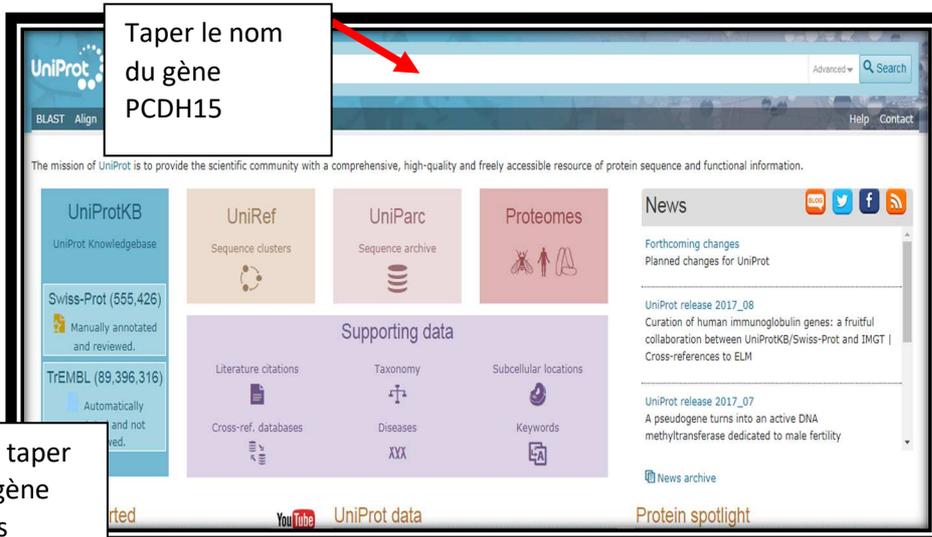
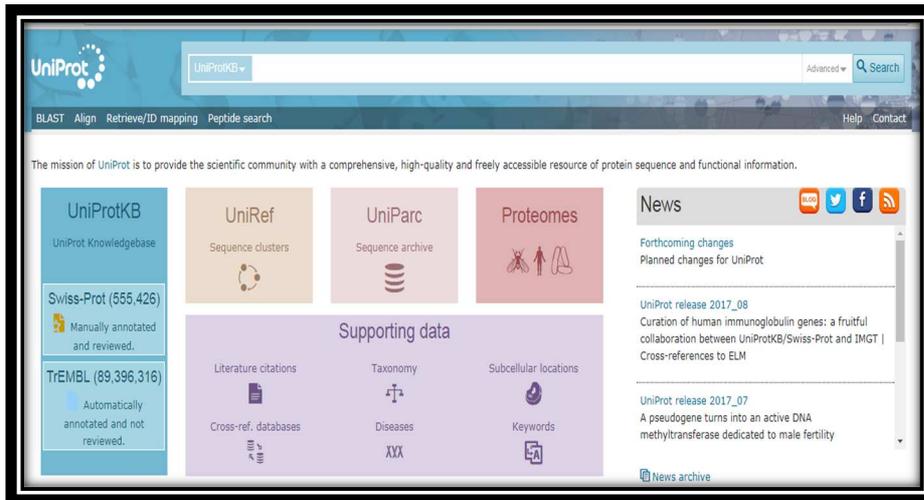
32. Verpy E, Leibovici M, Zwaenepoel I, Liu XZ, Gal A, Salem N, et al. A defect in harmonin, a PDZ domain-containing protein expressed in the inner ear sensory hair cells, underlies Usher syndrome type 1C. *Nat Genet.* 2000;26(1):51–5. pmid:10973247
33. Weil D, Blanchard S, Kaplan J, Guilford P, Gibson F, Walsh J, et al. Defective myosin VIIA gene responsible for Usher syndrome type 1B. *Nature.* 1995;374(6517):60–1. pmid:7870171
34. Weil D, El-Amraoui A, Masmoudi S, Mustapha M, Kikkawa Y, Laine S, et al. Usher syndrome type I G (USH1G) is caused by mutations in the gene encoding SANS, a protein that associates with the USH1C protein, harmonin. *Hum Mol Genet.* 2003;12(5):463–71. pmid:12588794
35. Weston MD, Lujendijk MW, Humphrey KD, Moller C, Kimberling WJ. Mutations in the VLGR1 gene implicate G-protein signaling in the pathogenesis of Usher syndrome type II. *Am J Hum Genet.* 2004;74(2):357–66. pmid:14740321
36. Weil D, Blanchard S, Kaplan J, Guilford P, Gibson F et al. 1995 Defective myosin VIIA gene responsible for Usher syndrome type 1B. *Nature* 374:60-61.
37. Weston MD, Lujendijk MW, Humphrey KD, Moller C, Kimberling WJ, Mutations in the VLGR1 gene implicate G-protein signaling in the pathogenesis of usher syndrome type II. *Am J Hum Genet.* 2004 Feb;74(2):357-66. Epub 2004Jan 20.
38. Weil D, El-Amraoui A, Masmoudi S, Mustapha M, Kikkawa Y, Lainé S, Delmaghani S, Adato A, Nadifi S, Zina ZB, Hamel C, Gal A, Ayadi H, Yonekawa H, Petit C. *Hum Mol Genet.* 2003 mars 1; 12 (5): 463-71.

Les adresses internet utilisées sont :

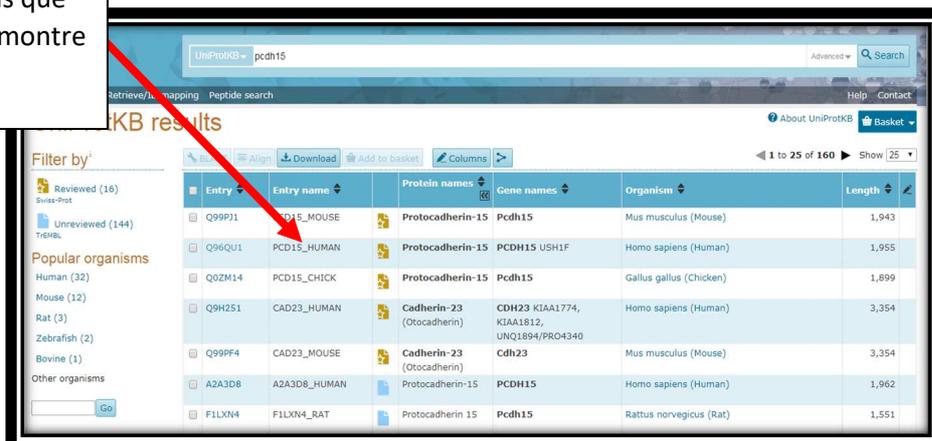
1. http://www.rightdiagnosis.com/u/usher_syndrome/stats-country.htm
2. <http://ghr.nlm.nih.gov/condition/usher-syndrome>
3. <http://www.nidcd.nih.gov/health/hearing/pages/usher.aspx>
4. VALENTIN (CC BY-NC-ND 2.0)
5. Fourni par RefSeq, Dec 2008
6. Source : article présentant la bioinformatique, sur le site d'Interstices Auteur(s) :
Isabelle Quinkal (Journaliste) François Rechenmann (Chercheur)
7. Segen's Medical Dictionary. © 2012 Farlex, Inc. All rights reserved.
8. <http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/NCBI>
9. Deafblind International (DbI) 2014
10. <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/>
11. GenBank.<http://ncbi.nlm.nih.gov/Genbank>
12. Online MendelianInheritance in Man (OMIM) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>
13. <https://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>
14. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4383874/>
15. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
16. <http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw2/index.html>
17. <http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/html/page.cgi?id=index>
18. <http://pymol.sourceforge.net/:DeLano, 2002>
19. <http://zhang.bioinformatics.ku.edu/LOMETS>
20. <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/USH2A>
21. <http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/USH1C>
22. <http://dictionnaire.sensagent.leparisien.fr/MYO7A/en-en/>

Annexes

Annexe n°1 : les étapes d'UniProt



Après avoir taper le nom du gène les résultats apparaît tels que la figure le montre



Code d'accèsion de la protocadherin-15 d'après uniprot

UniProtKB - Q96QU1 (PCD15_HUMAN)

Protein | **Protocadherin-15**
Gene | **PCDH15**
Organism | *Homo sapiens (Human)*
Status | Reviewed - Annotation score: ●●●●● - Experimental evidence at protein level¹

Function¹
Calcium-dependent cell-adhesion protein. Essential for maintenance of normal retinal and cochlear function.

GO - Molecular function¹
• calcium ion binding ⓘ Source: InterPro

Complete GO annotation...

GO - Biological process¹
• cell adhesion ⓘ Source: GO_Central
• cell-cell signaling ⓘ Source: GO_Central
• equilibration ⓘ Source: HGNC
• homophilic cell adhesion via plasma membrane adhesion molecules ⓘ Source: InterPro
• inner ear development ⓘ Source: InterPro

Annexe n°2 : la forme FASTA de la séquence protéique protocadherin-15

La protocadherin-15 est une protéine transmembranaire, formé de 1955 acide aminé

- De 1-26 : signale peptide.
- De 27-1376 parties extracellulaires.
- De 1377-1397 parties transmembranaires.
- De 1398-1955 parties cytoplasmiques (intracellulaires).

```
>sp|Q96QU1|27-1376
QYDDDCCKLARGGPPATIVAIDEESRNGTILVDNMLIKGTAGGPDPTIELSLKDNVDYWVL
MDPVKQMLFLNSTGRVLDLDRPPMNIHSIVVQVQCINKKVGTTIYHEVRIVRDRNDNSPT
FKHESYYATVNELTPVGTTFITGFSGDNGATDIDDGPNQIEYVIQYNPDDPTSNDTFEI
PLMLTGNIVLRKRLNYEDKTRYFVIIQANDRAQNLNERRTTTTTLTVDVLGDGDLGPMFL
PCVLVPNTRDCRPLTYQAAPLRTPEELNPIIVTPPIQAIDQDRNIQPPSDRPGILYSI
LVGTPEDYPRFFHMHPRTAELSLEPVNRDFHQKFDLVIKAEQDNGHPLPAFAGLHIEIL
DENNQSPYFTMPSYQGYILESAPVGATISDSLNTSPLRIVALDKDIEDTKDPELHLFLN
DYTSVFTVTQTGITRYLTLLQPVDREEQQT YTFSITAFDGVQESEPVIVNIQVMDANDNT
PTFPEISYDVVYVYTDMPRGDSVIQLTAVDADEGSNGEITYEILVGAQGDFIINKTTGLIT
IAPGVEMIVGRTYALTVQAADNAPPAERRNSICTVYIEVLPPNNQSPPRFPQLMYSLEIS
EAMRVGAVLLNLQATDREGDSITYAIENGDPQRFVNLSETTGILTLGKALDRESTDRYIL
IITASDGRPDGTSTATVNIVVTDVNDNAPVFDPYLPRNLSVVEEEANAFVGVQVKATDPDA
GINGQVHYSLGNFNNLFRITSNNGSIYTAVKLNREVRDYYELVVVATDGAVHPRHSTLTLA
IKVLDIDDNSPVFTNSTYTVLVEENLPAGTTILQIEAKDVDLGANVSYRIRSPEVKHFFA
LHPFTGELSLRSLDYEAFPDQEASITFLVEAFDIYGTMPPIATVTVIVKDMNDYPPVF
SKRIYKGMVAPDAVKGTPITTVYAEDADPPGLPASRVRYRVDVQFPYPASIFEVEEDSG
RVITRVNLNEEPTTIFKLVVVAFDDGEPVMSSSATVKILVLHPGEIPRFTQEEYRPPPV
ELATKGTVMGVISAAAINQSIVYSIVSGNEEDTFGINNITGVIYVNGPLDYETRTSYVLR
VQADSLEVVLANLRVPSKSNTAKVYIEIQDENHPPVFQKKFYIGGVSEDARMFTSVLRV
KATDKDTGNYSVMA YRLIIPPIKEGKEGFV VETYTGLIK TAML FHNMRRSYFKFQVIATD
DYGKGLSGKADVLVSVVNQLDMQVIVSNVPPTLVEKKIEDLTEILDRYVQEIQPGAKVVV
ESIGARRHGDAFSLDYTKCDLTVY AIDPQT NRAIDRNELFKFLDGKLLDINKDFQPYYG
EGGRILEIRTPAVTSIKKRGESLGYTEGA
>sp|Q96QU1|1377-1397
```

LLALAFIILCCIPAILVVLV

>sp|Q96QU1|1398-1955

SYRQFKVRQAECKTARIQAALPAAKPAVPAPAPVAAPPPPPPPGAHLYEELGDSSIL
 FLLYHFQQSRGNSVSEDRKHQQVVMFSSNTIEAHKSAHVDGSLKSNKLSARKFTFLS
 DEDDLSAHNPLYKENISQVSTNSDISQRTDFVDPFSPKIQAKSKSLRGPREKIQRLWSQS
 VSLPRRLMRKVPNRPEIIDLQQWQGTQKAENENTGICTNKRGSNPLLTTEEANLTEKE
 EIRQGETLMIEGTEQLKSLSSDSSFCFPRPHFSFSTLPTVSRVELKSEPNVISSPAECS
 LELSPSRPCVLHSSLSRRETPICMPLIETERNIFENFAHPPNISPSACPLPPPPPIPPS
 PPPAPAPLAPPPDISPFLFCPPPSPPSIPLPLPPTFFPLSVSTSGPPTPPLLPPFPPTP
 LPPPPSIPCPPPSASFLSTECVCITGVKCTTNLMPAEKIKSSMTQLSTTTVCKTDPQR
 EPKGILRHVKNLAELEKSVANMYSQIEKNYLRTNVSELQTMCPSEVTNMEITSEQNKGSL
 NNIVEGTEKQSHSQSTSL

Annexe n°3 : les 3 structures déterminées expérimentalement stockées dans la PDB qui sont respectivement : 5T4M, 5T4N, 4XHZ

- Entité 1 contenant chaîne A, B de Cristal d'Homme Protocadherin-15 EC3-5 Avec le code PDB : **5T4M**
- Entité 1 Chaîne contenant chaîne A, B. Structure de Cristal d'Homme Protocadherin-15 EC3-5 D414A Variante dont le code PDB : **5T4N**
- Entité 1 contenant chaîne A, Structure de Cristal d'Homme Protocadherin-15 EC8-10 dont le code PDB : **4XHZ**

The screenshot shows the RCSB PDB website interface. At the top, there is a navigation bar with links for Deposit, Search, Visualize, Analyze, Download, Learn, and More, along with a MyPDB Login button. Below this is the PDB logo and a search bar with the text 'Search by PDB ID, author, macromolecule, sequence, or ligands'. The main content area is divided into several sections: a 'Welcome' sidebar, a central article titled 'A Structural View of Biology' with a video thumbnail 'VIDEO: HOW ENZYMES WORK', and a 'Molecule of the Month' section for August featuring 'Glutathione Transferases' with a 3D protein structure visualization.

RCSB PDB Deposit Search Visualize Analyze Download Learn More MyPDB Login

RCSB PDB An Information Portal to 133397 Biological Macromolecular Structures

PCDH15

Gene View Protein Feature View

- PCDH15 (3)
- Pcdh15 - Gallus gallus
- Pcdh15 - Homo sapiens (3)
- Pcdh15 - Mus musculus (7)

A Structural View of Bio...
This resource is powered by the Protein 3D shapes of proteins, nucleic acids, and students and researchers understand all aspects of biomedicine and agriculture, from protein synthesis to health and disease.
As a member of the wwPDB, the RCSB PDB curates and annotates PDB data.
The RCSB PDB builds upon the data by creating tools and resources for research and education in molecular biology, structural biology, computational biology, and beyond.

Video: How Enzymes Work

RCSB PDB An Information Portal to 133397 Biological Macromolecular Structures

Search by PDB ID, author, macromolecule, sequence

Advanced Search | Browse by Annotations

Protocadherin-15 - Q96QU1 (PCD15_HUMAN)

Protein Feature View of PDB entries mapped to a UniProtKB sequence

Number of PDB entries for Q96QU1: 3

5T4M: Entity 1 containing Chain A, B
Crystal Structure of Human Protocadherin-15 EC3-5
Powers, R.E., Gaudet, R., Sotomayor, M.
PubMed ID is not available.
Released: 2/22/2017
Method: X-ray Diffraction
Resolution: 2.24 Å
Residue Count: 730
Macromolecule: Protocadherin-15 (protein)
Unique Ligands: CA, CL

5T4N: Entity 1 containing Chain A, B
Crystal Structure of Human Protocadherin-15 EC3-5 D4
Powers, R.E., Gaudet, R., Sotomayor, M.
PubMed ID is not available.
Released: 2/22/2017
Method: X-ray Diffraction
Resolution: 2.7 Å
Residue Count: 730
Macromolecule: Protocadherin-15 (protein)
Unique Ligands: CA, CL

4XHZ: Entity 1 containing Chain A
Crystal Structure of Human Protocadherin-15 EC8-10

Annexe n°4 : les étapes de Blastp/PDB

Basic Local Alignment Search Tool

BLAST finds regions of similarity between biological sequences. The program compares nucleotide or protein sequences to sequence databases and calculates the statistical significance. [Learn more](#)

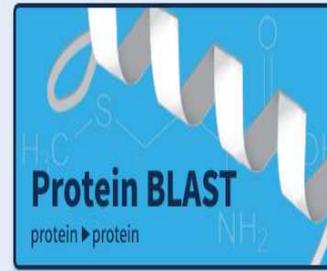
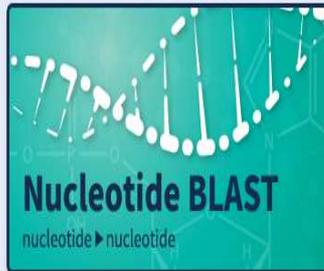
QuickBLASTP

Try **QuickBLASTP** for a fast protein search of nr.

Tue, 23 May 2017 13:00:00 EST

[More BLAST news...](#)

Web BLAST



BLAST Genomes

Enter organism common name, scientific name, or tax id

Search

Human

Mouse

Rat

Microbes

blastn blastp **blastx** tblastn tblastx

Enter Query Sequence

Enter accession number(s), gi(s), or FASTA sequence(s) ?

```
DYGKGLSGKADVLVSVVNQLDMQVIVSNVPPTLVEKKIEDLTEILDYVQEIPGAKVVV
ESIGARRHGDAFSLLEDYTKCDLTVYAIDPQTNRAIDRNELFKFLDGKLLDINKDFQYYG
EGGRILEIRTPEAVTSIKKRGESLGYTEGA
```

Program Selection

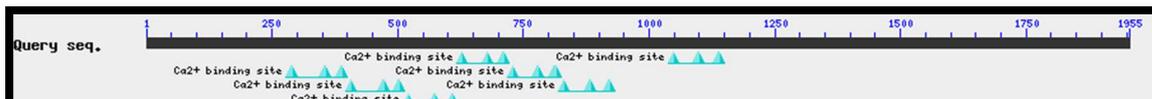
Algorithm

- blastp (protein-protein BLAST)
- PSI-BLAST (Position-Specific Iterated BLAST)
- PHI-BLAST (Pattern Hit Initiated BLAST)
- DELTA-BLAST (Domain Enhanced Lookup Time Accelerated BLAST)

Choose a BLAST algorithm 

BLAST Search database Protein Data Bank proteins(pdb) using Blastp (protein-protein BLAST)

Show results in a new window

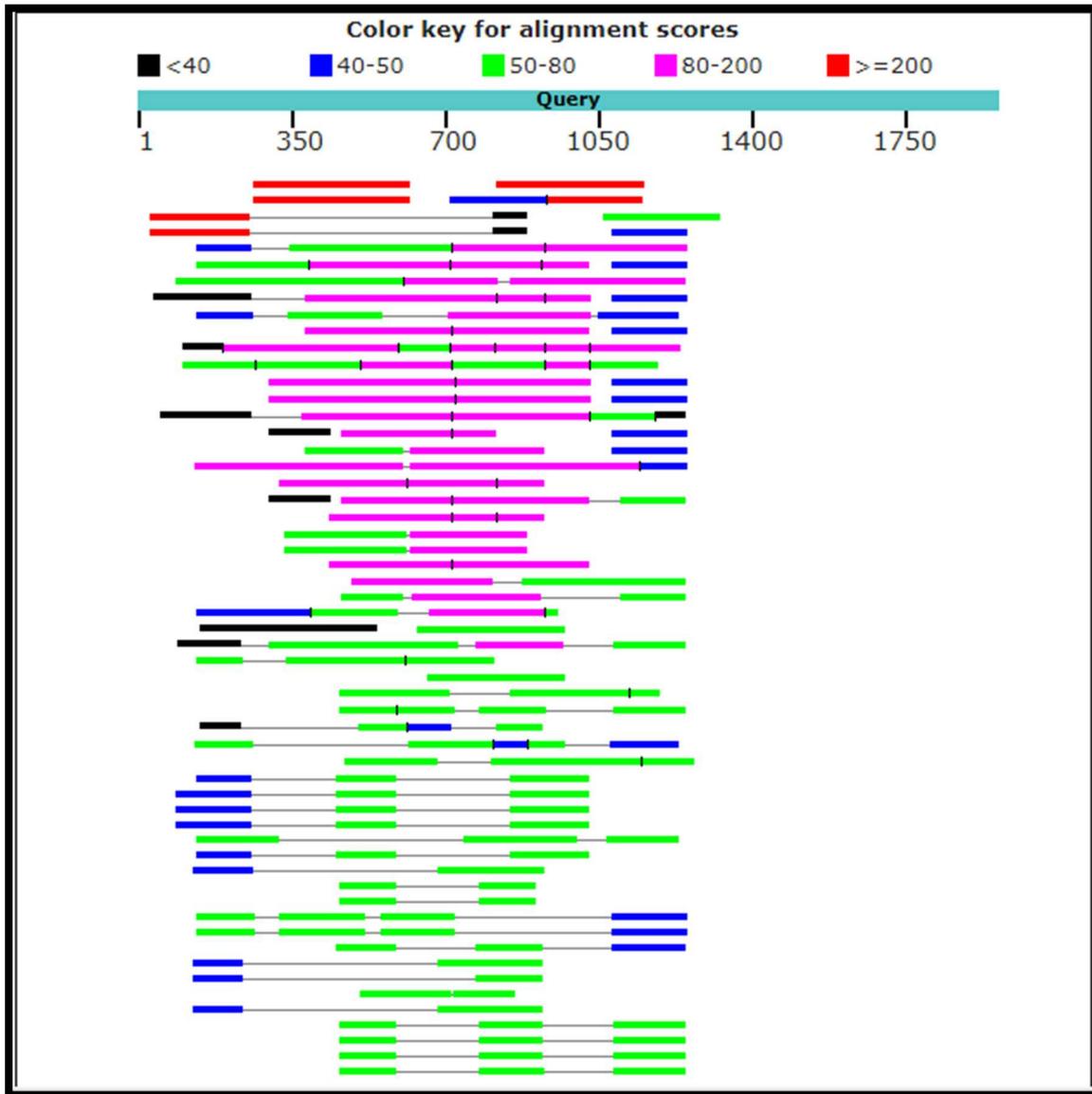
Query seq. 

Specific hits

Cad	Cadhe	Cadhe	Cadh	Cad	Cadh	Cadh	Cadh	Cadh	Cadh
-----	-------	-------	------	-----	------	------	------	------	------

Superfamilies

CR_lik	CR_like								
--------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------



Alignments Download GenPept Graphics Distance tree of results Multiple alignment

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Chain A, Crystal Structure Of Human Protocadherin-15 Ec3-5	725	725	18%	0.0	99%	5T4M_A
Chain A, Crystal Structure Of Human Protocadherin-15 Ec3-5 D414a Variant	722	722	18%	0.0	99%	5T4N_A
Chain A, Crystal Structure Of Human Protocadherin-15 Ec8-10	662	662	17%	0.0	99%	4XHZ_A
Chain B, Crystal Structure Of Mouse Cadherin-23 Ec1-2 And Protocadherin-15 Ec1-2 Splice Variant	468	505	15%	3e-152	97%	4XXW_B
Chain B, Crystal Structure Of Mouse Cadherin-23 Ec1-2 And Protocadherin-15 Ec1-2 Form I	462	499	15%	1e-149	95%	4APX_B
Chain A, Crystal Structure Of Mouse Protocadherin-15 Ec9-10	438	478	22%	2e-141	95%	5KJ4_A
Chain A, Protocadherin Gamma B2 Extracellular Cadherin Domains 1-5	142	345	52%	1e-34	30%	5T9T_A
Chain A, Protocadherin Gamma B2 Extracellular Cadherin Domains 3-6	136	411	45%	2e-33	29%	5S2R_A
Chain A, Crystal Structure Of Mouse N-Cadherin Ectodomain	136	273	57%	1e-32	31%	3Q2W_A
Chain A, Protocadherin Gamma A9 Extracellular Cadherin Domains 1-5	134	415	44%	4e-32	31%	5S2N_A
Chain A, Structure Of Human Clustered Protocadherin Gamma B3 Ec1-4	124	291	43%	1e-29	30%	5K8R_A
Chain A, Protocadherin Gamma A8 Extracellular Cadherin Domains 1-4	122	210	33%	5e-29	30%	5S2M_A
Chain A, Protocadherin Gamma A4 Extracellular Cadherin Domains 3-6	122	603	57%	2e-28	30%	5S2Q_A
Chain A, Protocadherin Gamma B7 Extracellular Cadherin Domains 1-4 P41212 Crystal Form	117	479	55%	3e-27	30%	5S2O_A
Chain A, C-Cadherin Ectodomain	113	205	37%	4e-25	28%	1L3W_A

Annexe n°5 : Modélisation comparative : Swiss-Model

BIOZENTRUM SIB
University of Basel
The Center for Molecular Life Sciences

SWISS-MODEL

Modelling Repository Tools Documentation Log in Create Account

Welcome to SWISS-MODEL

SWISS-MODEL is a fully automated protein structure homology-modelling server, accessible via the Expasy web server, or from the program DeepView (Swiss Pdb-Viewer). The purpose of this server is to make Protein Modelling accessible to all biochemists and molecular biologists worldwide.

[Start Modelling](#)

BIOZENTRUM SIB
University of Basel
The Center for Molecular Life Sciences

SWISS-MODEL

Modelling Repository Tools Documentation Log in Create Account

All Projects

PCHD15-Swissmodel Created: Aug. 19, 2017 at 19:31

Summary Templates **50** Models **13**

Model Results

Order by: GMQE

Model 01

Oligo-State Ligands
MONOMER 4 x CA
(matching prediction) 4 x CALCIUM ION

Ligand 2 in contact with: Chain A : E601, E653, D683, V684, D696, D719
Ligand 3 in contact with: Chain A : N655, N657, D717, D719, N723, D767
Ligand 5 in contact with: Chain A : E703, E754, D785, I786, D788, D821
Ligand 7 in contact with: Chain A : E804, D855, E857, D895, Y896

Global Quality

Oligo-State	-2.99
OMEAN	-2.33
CP	-2.18
All Atom	-1.43
Solvation	-2.20
Torsion	-2.20

Local Quality

Comparison

GMQE OMEAN
0.21 -2.99

3D structure visualization

Model 02

Oligo-State Ligands
MONOMER 3 x CA
(matching prediction)

Global Quality

Local Quality

Template Seq Identity Coverage Description
5t9t.1.B 28.08%

Model-Template Alignment

Model 04

Oligo-State Ligands
MONOMER None
(matching prediction)

Global Quality

Local Quality

Template Seq Identity Coverage Description
Serd.1.A 24.85%

Model-Template Alignment

Model 01

Oligo-State Ligands
MONOMER 2 x CA
(matching prediction)

Global Quality

Local Quality

Model 08

Template **3q2w.1.A** Seq Identity 21.61% Coverage

Model-Template Alignment

Description
Cadherin-2

Oligo-State Ligands
MONOMER 1 x CA

(matching prediction)

Global Quality

Local Quality

Model 06

Template **3q2w.1.A** Seq Identity 23.41% Coverage

Model-Template Alignment

Description
Cadherin-2

Oligo-State Ligands
MONOMER 5 x CA

(matching prediction)

Global Quality

Local Quality

Model 07

Template **5t4n.2.A** Seq Identity 99.72% Coverage

Model-Template Alignment

Description
Protocadherin-15

Oligo-State Ligands
MONOMER 3 x CA

(matching prediction)

Global Quality

Local Quality

Oligo-State Ligands
MONOMER 3 x CA

(matching prediction)

Global Quality

Local Quality

Model 11

Template **5t9t.1.B** Seq Identity 29.55% Coverage

Model-Template Alignment

Description
Protocadherin gamma B2-alc

Oligo-State Ligands
MONOMER 3 x CA

(matching prediction)

Global Quality

Local Quality

Model 12

Template **4xhz.1.A** Seq Identity 100.00% Coverage

Model-Template Alignment

Description
Protocadherin-15

Oligo-State Ligands
MONOMER None

(matching prediction)

Global Quality

Local Quality

Model 13

Template **3q2w.1.A** Seq Identity 28.90% Coverage

Model-Template Alignment

Description
Cadherin-2

Oligo-State Ligands
MONOMER 3 x CA

(matching prediction)

Global Quality

Local Quality

Model 12

Template **4xhz.1.A** Seq Identity 100.00% Coverage

Model-Template Alignment

Description
Protocadherin-15

	Global Quality	Local Quality	Comparison
Model_12	QYDDDDCKLARGGFFATIVAIIDDEESSRNGTILVDNHLIKGTAGGPDPTIELSLKDNVDYRVFLMDPVPKQLFLNLTGRLVLRD		80
4khs.1.A		
Model_12	PFMNIHSIVVQVQCINKKVGTIYHEVRIVVRDRDNDNSPFYFKHESYYATVNELTFVGTIIFTFSGDNGATDIDDDGPNQ		160
4khs.1.A		
Model_12	IEYVIQYHEDDPTISNDTFFIPLMLTGHIVLKRRLNVEDKTRYEVIIQANDRAQNLNERRITITITLTVDLGDDDLGPHFL		240
4khs.1.A		
Model_12	PCVLPVNTDRCPRLTYQAAIFELRTPPEELNPIIVTFFPIQAIDQDRHIQPPSDRPGILYSILVGTPEDEVPRFFHMPRTAE		320
4khs.1.A		
Model_12	LLELEPVNRDFHQKFDLVIKAEQDNGHPLPAFAGLHIEILDENNQSPYFTMPSYQSYILESAFVGATISDNLNLTSLRI		400
4khs.1.A		
Model_12	VALDKDIEDTKDPELHLFLNDYSVFFVIQTGITRYLTLQLQVDRAEQQTYTFSITAFDGVQSESEPIVNIQVMDANDNT		480
4khs.1.A		
Model_12	PTFFEISYDVVYTDNRFGDSVIGLTAVDADGSGNGETIYEILVGAQQDFIINKTITGLITIAFGVEMIVGRTYALTVQAA		560
4khs.1.A		
Model_12	DNAFFAERRNSICTVYIEVLPFNHQSPFRFPQLNYSLEISEAMRVGAVLLNLQATDREGSDSITVAIENGDDPQVFNLS		640
4khs.1.A		
Model_12	TGILTLGKALDRESTDRIYILITIASDGRFDGTSTATVNIIVVDVNDNAPVDFPYLFRNLSVVEEANAFAVQGVKATDFDA		720
4khs.1.A		
Model_12	LNNGGVHSLSNENHLEPTISGSSIVYAVKTRNPEYDYELVYVATDQAVHEDRSTETLAKVILSDPNSEVFTNSVYV		800
4khs.1.A		

4xhz.1.A	-----	
Model_12	TGILTLGKALDRESTDRYILIIITASDGRPDGTSTATVNI VVDVNDNAPVDFPFLPRNLSVVVEEANA FVGQVKATDPDA	720
4xhz.1.A	-----	
Model_12	GINGQVHYSLGNFNFLFRITSNGS IYTAVKLNREVRDYYELVVVATDGA VHRHSTLTLAIKVLDDDN SPVFTNSTYTV	800
4xhz.1.A	-----	
Model_12	LVENLFPAGTTILQIEAKVDLGNVSYRIRSPPEVKHFFALHPFTGELSLRLSLDYEA FPDQEA SITFLVEA FDIYGTMP	880
4xhz.1.A	LVENLFPAGTTILQIEAKVDLGNVSYRIRSPPEVKHFFALHPFTGELSLRLSLDYEA FPDQEA SITFLVEA FDIYGTMP	920
Model_12	FGIATVTVIVKDMNDYPPVFSKRIYKGMVAPDAVKGTPITTVYAEADADPPGLPASRVRYRVDDVQFPYPASIFEVEEDSG	960
4xhz.1.A	FGIATVTVIVKDMNDYPPVFSKRIYKGMVAPDAVKGTPITTVYAEADADPPGLPASRVRYRVDDVQFPYPASIFEVEEDSG	1040
Model_12	RVITRVNLNEEPTTIFKLVVVA FDDGEPVMSSSATVKILV LHPGEI PRFTQEEYRPPPVSE L ATKGT MVGVISAAA INGS	1100
4xhz.1.A	RVITRVNLNEEPTTIFKLVVVA FDDGEPVMSSSATVKILV LHPGEI PRFTQEEYRPPPVSE L ATKGT MVGVISAAA INGS	1120
Model_12	LVYSIVSGNEEDT FGINNI TGVIVYNGFLDYETRTSYVLRVQADS LEVYLANLRVFSKSN TAKVYIEIQDENNHPPVF QK	1200
4xhz.1.A	LVYSIVSGNEEDT FGINNI TGVIVYNGFLDYETRTSYVLRVQADS LEVYLANLRVFSKSN TAKVYIEIQDENNHPPVF	1280
Model_12	KFYIGGVSE DARMFTSVLRVKATDKDTIGNYSVMAYRLI I PPIKEGKEGFVET YIGLIK TAML FHNMRRSYFKFQVIATD	1360
4xhz.1.A	-----	
Model_12	DYVKGKLSGKADVLVSVVNVQLDMQVIVSNVPTLVEKKIEDLTELDRYVQE QIPGAKVVVESIGARRHGDAFSL E DYT KC	
4xhz.1.A	-----	
Model_12	DLTVYAI DPQINRAIDRNELFKFLDGKLLDINKDFQPYGEGGRILEIRTPEAVISIKKRGESLGYTEGA	
4xhz.1.A	-----	

Figure 19 : structure tridimensionnelle De la PROTOCADHERINE-15

Annexe n°6 : Modélisation par reconnaissance de repliements : Phyre2

The screenshot shows the Phyre2 web interface. At the top, there is the Phyre2 logo and navigation links for Google Groups, a search bar, and social media icons. Below this, there are links for 'Cambridge 2017 Workshop', 'Older Workshops', 'New Phyre2 paper', and 'Fast structural search with PhyreStorm (beta-testing)'. The main form contains fields for 'E-mail Address', 'Optional Job description', and 'Amino Acid Sequence'. There is also a 'Modelling Mode' dropdown set to 'Normal' and buttons for 'Phyre Search' and 'Reset'.

The screenshot shows the Phyre2 Job Status page. At the top is the Phyre2 logo. Below it, the 'Job Status' section displays the following information:

Email	lilia_chabane@yahoo.fr
Job Description	PCDH15_
Unique Job ID	4b3f712aaedb1d5c
Date	Thu Aug 24 22:42:37 BST 2017

Below the table, it states: 'Estimated total processing time: 9.3 hours ± 8.2 hours'. A red arrow points to the 'Job Description' field in the table. The main message reads: 'Your job has entered the queue.... Waiting for job to start.' Below this, it says '62 jobs running 29 jobs queued'. At the bottom, it notes: 'This page auto-refreshes every 30 seconds until job completion' with a refresh icon.

Phyre2

Email	lilia_chabane@yahoo.fr
Description	PCDH15
Date	Thu Aug 24 22:42:37 BST 2017
Unique Job ID	4b3f712aaedb1d5c
Sequence	MFRQFYLWTC ... Download FASTA
Job Type	normal
Job Expiry	30 days

[Download zip of all results](#)

Top model

Model (left) based on template [c4ux8A](#)

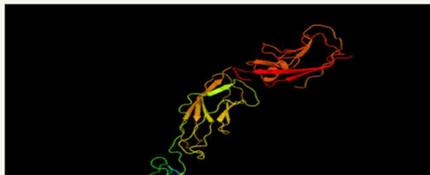
Top template information

PDB header:signaling protein
Chain: A; **PDB Molecule:**proto-oncogene tyrosine-protein kinase receptor ret;
PDBTitle:ret recognition of gdnf-gfralpha1 ligand by a composite binding site2 promotes membrane-proximal self-association

Confidence and coverage

Confidence: **100.0%** Coverage: **29%**

418 residues (29% of your sequence) have been modelled with 100.0% confidence by the single



Top model

Model (left) based on template [c4ux8A](#)

Top template information

PDB header:signaling protein
Chain: A; **PDB Molecule:**proto-oncogene tyrosine-protein kinase receptor ret;
PDBTitle:ret recognition of gdnf-gfralpha1 ligand by a composite binding site2 promotes membrane-proximal self-association

Confidence and coverage

Confidence: **100.0%** Coverage: **30%**

399 residues (30% of your sequence) have been modelled with 100.0% confidence by the single highest scoring template.

Additional confident templates have been detected (see [Domain analysis](#)) which cover other regions of your sequence.

557 residues (41%) could be modelled at >90% confidence using multiple-templates.

You may wish to try resubmitting your sequence in "intensive" mode to model more of your sequence.

3D viewing
[Interactive 3D view in JSmol](#)
 For other options to view your downloaded structure offline see the [FAQ](#)

Image coloured by rainbow N → C terminus
 Model dimensions (Å): X:85.350 Y:116.303 Z:68.568

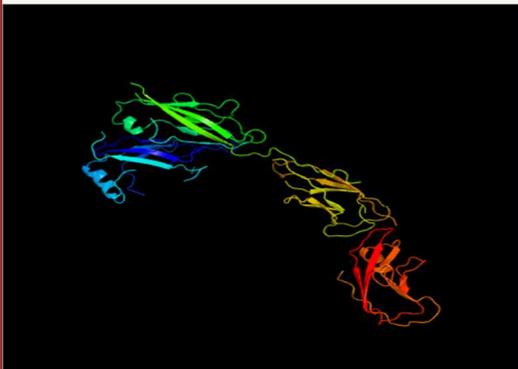
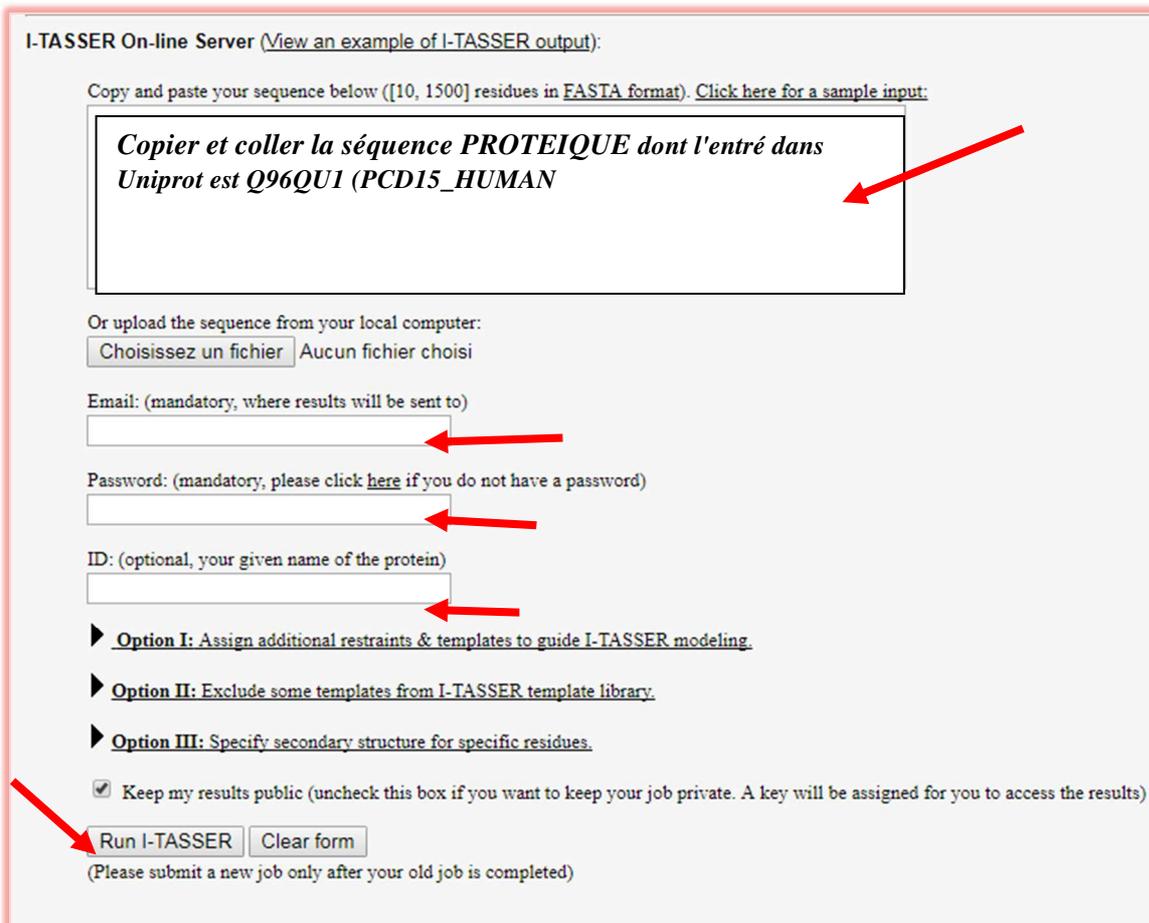
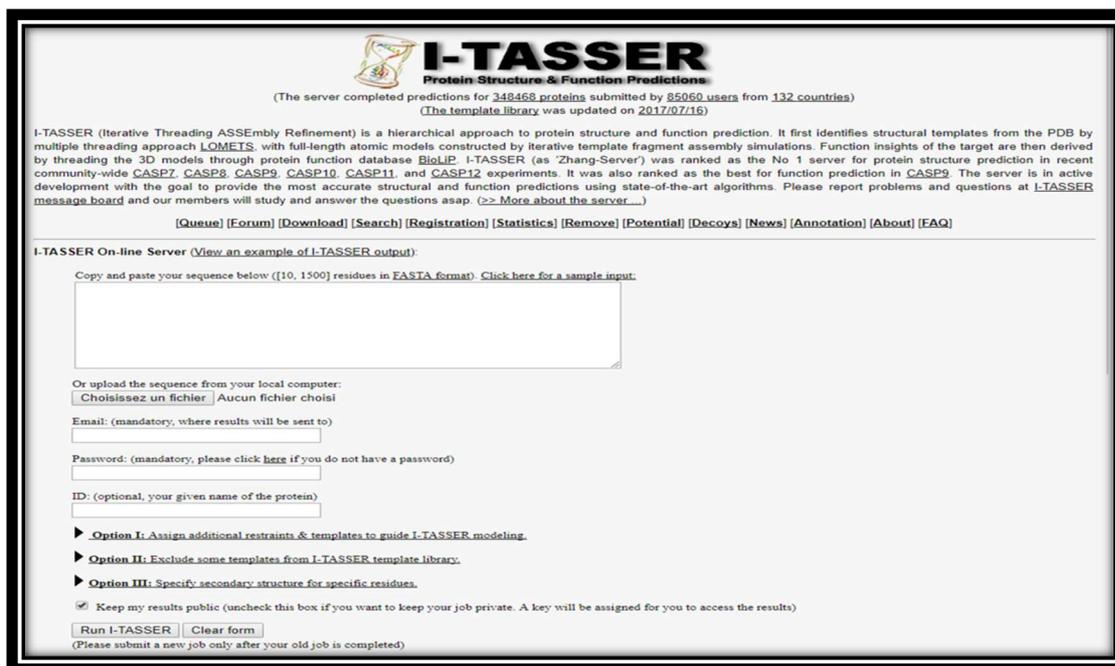


Figure 20 : structure tridimensionnelle de la PROTOCADHERINE-15(Phyre2) modélisation par reconnaissance de repliements.

Annexe n°7 : Modélisation ab-initio : I-TASSER



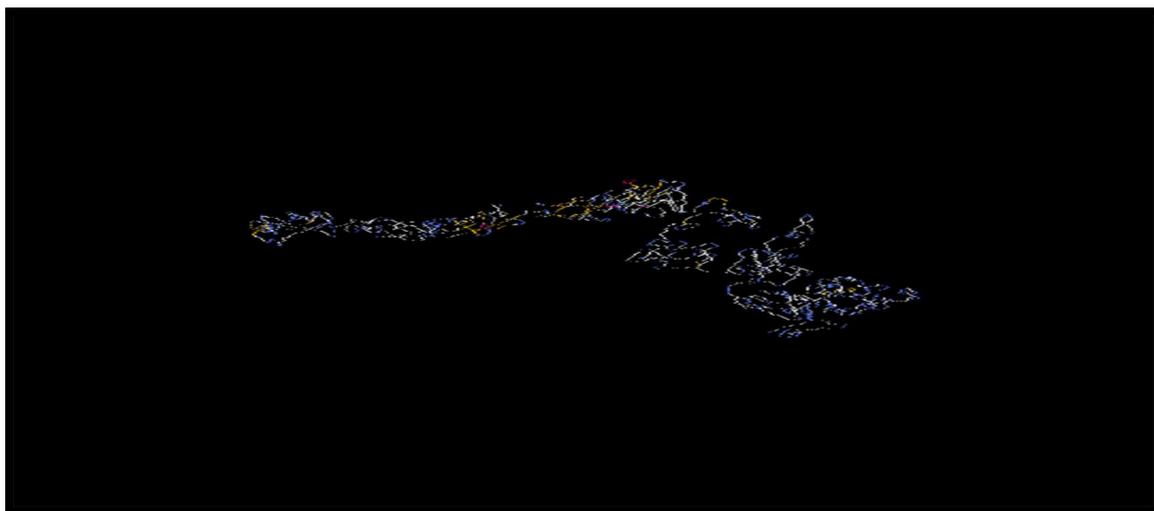


Figure 21 :PCDH15-model1-I-TASSER.pdb

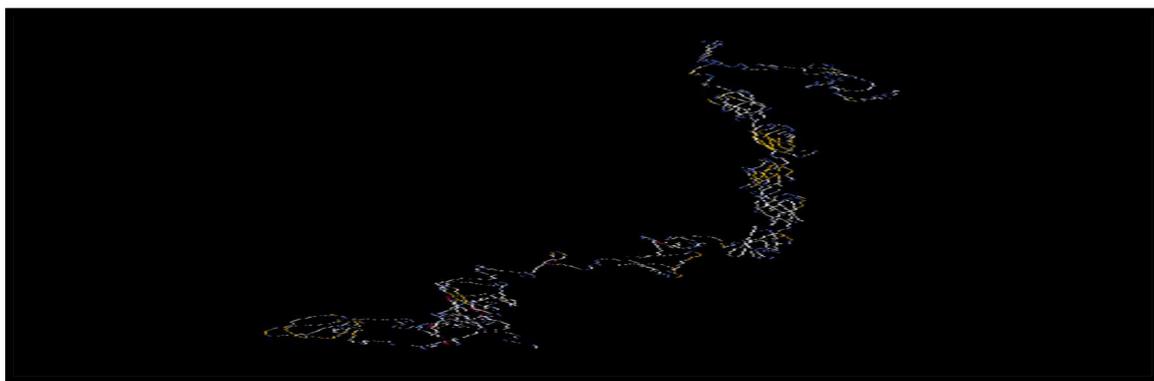


Figure 22:PCDH15-model2-I-TASSER.pdb

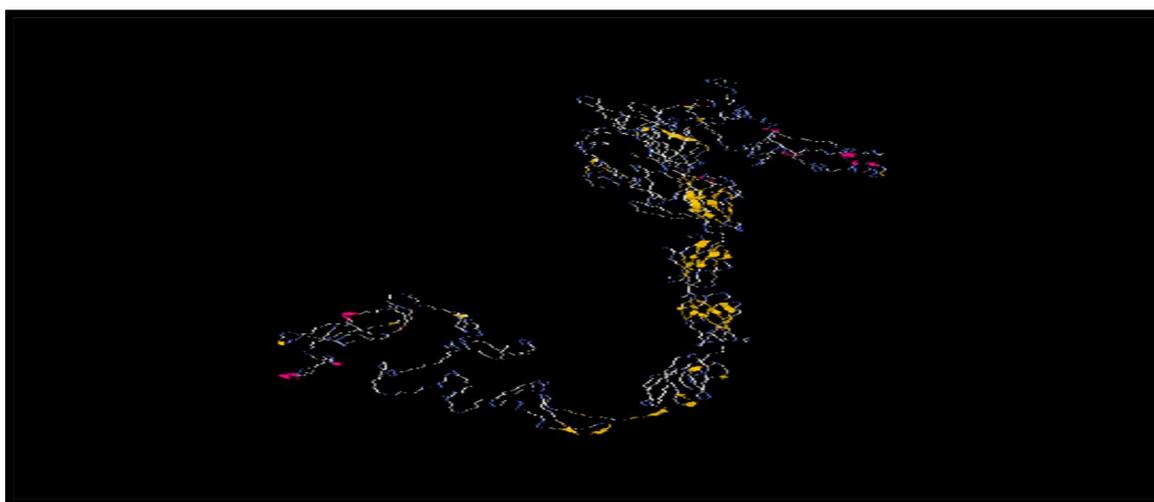


Figure 23:PCDH15-model3-I-TASSER.pdb



Figure 24:PCDH15-model4-I-TASSER.pdb

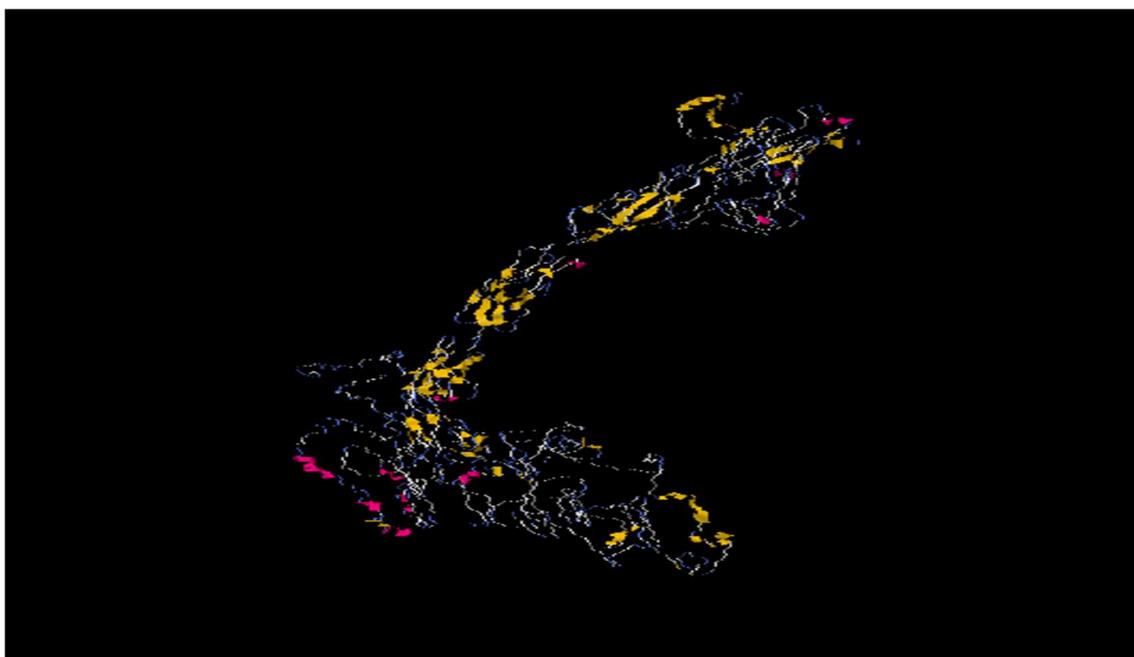


Figure 25: PCDH15-model5-I-TASSER.pdb

Annexe n°8 : les structures 4XHZ, 5T4M, 5T4N visualisé par PYMOL

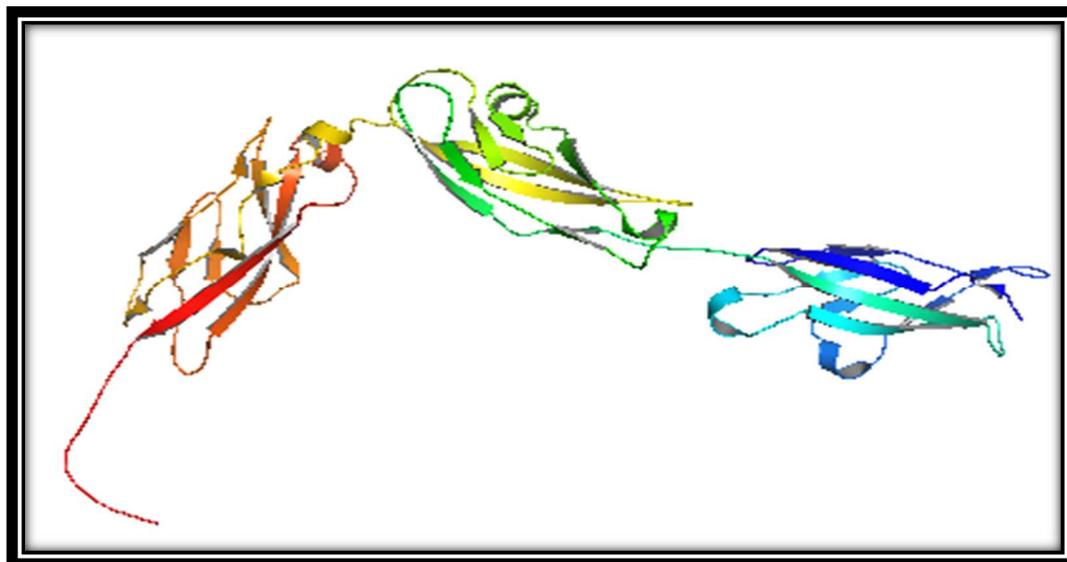


Figure 26 : visualisation de la structure 3D de 4XHZ avec PYMOL



Figure 27 : visualisation de la structure 3D de 5T4M avec PYMOL



Figure 28: visualisation de la structure 3D de 5T4N avec PYMOL

Annexe n°9 : les interactions de String

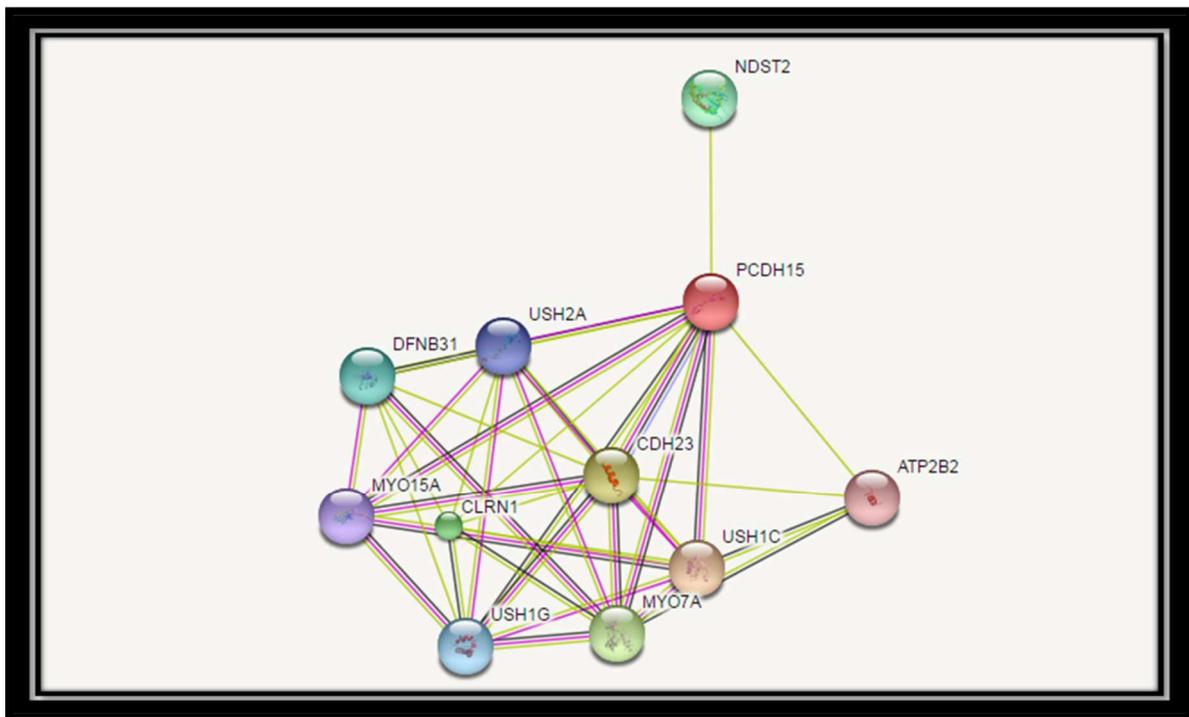


Figure 29 : les réseaux d'interactions de la protocadherine-15 d'après String

Annexe n°10 : les différents gènes du syndrome d'USHER type1

- Le gène MYO7A :

Il est responsable de syndrome d'USHER de type IB .C'est le premier gène qui a été identifié (Weil , et *al.*,1995). il se localise au niveau du bras long (q) du chromosome 11 en position 13.5. Il est formé de 49 exons dont un qui n'est pas codant (Weston,*et al.*,1996).(levy,*et al.*,1997). Il code pour une protéine appelée myosine VIIA, qui fait partie des myosines non conventionnelles. Elle possède une tête motrice et une extrémité C-terminal.

Myosine VIIA est exprimée principalement dans l'oreille interne et dans la rétine. Dans l'oreille interne, la myosine VIIA joue un rôle dans le développement et l'entretien des stéréocils, qui sont riches en filaments d'actine et dont les mouvements permettent de convertir les ondes sonores en influx nerveux. Elle est donc indispensable à la machinerie de transduction mécanoélectrique et son absence entraîne l'installation d'une surdité profonde (Stepanyan., 2006).

En Algérie, dans le cadre de la recherche de l'origine génétique des surdités congénitales, une étude a permis de retrouver une mutation dans le gène MYO7A chez une famille algérienne consanguine (Ammar,*et al.* , 2009)

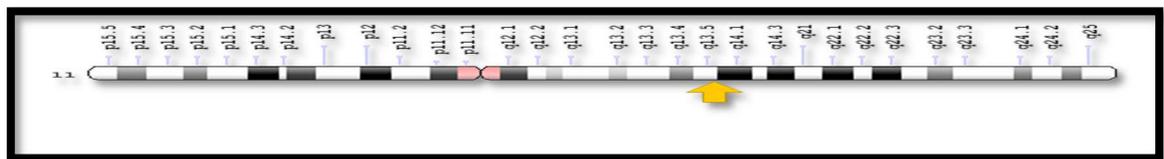


Figure 30 : localisation chromosomique du gène MYO7A
[Genetics Home Reference]

- Le Gène PCDH15

Il est responsable du syndrome d'USHER de type IF. Il est localisé au niveau du bras long du chromosome 10 à la position 21-1(Ahme,*elal.* , 2001). Il est formé de 35 exons, il code pour une protéine appelée PROTOCADHERINE-15 qui est une protéine d'adhésion cellulaire, elle est présente au niveau de l'oreille interne et les cellules photo réceptrice de la rétine. La fonction exacte de la PROTOCADHERINE-15 dans la rétine n'a pas été déterminée mais elle joue probablement un rôle dans le développement et le maintien des cellules et photo réceptrice. Par contre dans l'oreille interne, la PROTOCADHERINE-15 joue un rôle dans le développement des stéréocils. Il existe 3 isoformes de la PCDH15 : CD1 , CD2 et CD3.

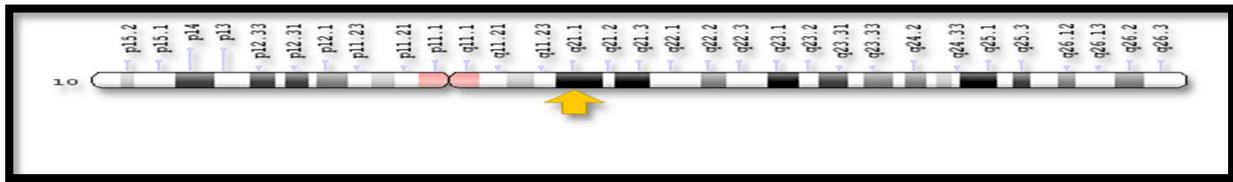


Figure 31 : localisation chromosomique du gène PCDH15
[Genetics Home Reference]

- Le gène USH1C :

Il est responsable du syndrome d'USHER de type IC (Verpy, *et al.*, 2000). Il est localisé au niveau du bras court du chromosome 11 à la position 14.3. Il est formé de 27 exons, et il code pour une protéine appelée Harmonin. Cette protéine a la capacité de se lier à de nombreuses autres protéines dans les membranes cellulaires et coordonne leurs activités. Elle joue un rôle dans le développement et l'entretien des stéréocils. Harmonin est également présente dans les photorécepteurs de l'œil, sa fonction dans la rétine n'est pas bien comprise, mais elle est considérée comme importante dans le développement et la fonction des cellules photoréceptrices.

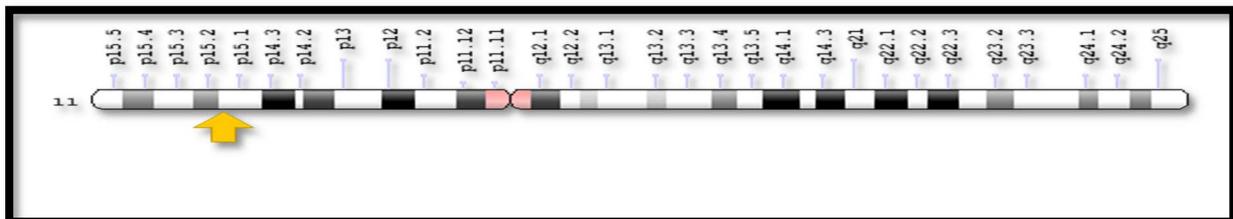


Figure 32 : localisation chromosomique du gène USH1C
[Genetics Home Reference]

- Le gène CDH23 :

Il est responsable du syndrome d'USHER de type 1D (USH1D), il est localisé au niveau du bras long du chromosome 10 à la position 22.1. Il est composé de 69 exons, il code pour une protéine d'adhésion cellulaire au niveau cochléaire appelée Cadhérine23. Dans la rétine, le rôle de la Cadhérine23 est moins bien compris. Sa présence dans les cellules photoréceptrices suggère qu'elle ait un rôle essentiel dans le développement et la fonction des cellules.

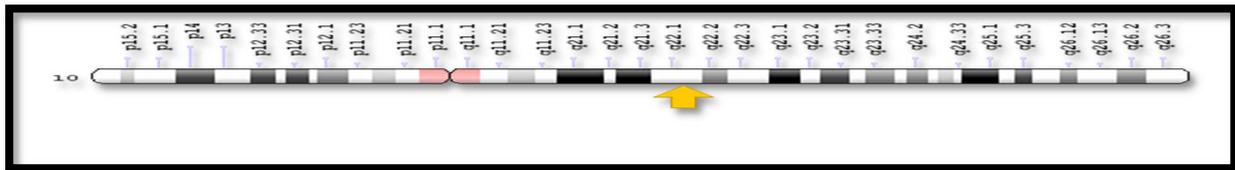


Figure 33 : localisation chromosomique du gène CDH23
[Genetics Home Reference]

- Le gène USH1G :

Il est responsable du syndrome d'USHER de type 1G. il est localisé au niveau du bras long(q) du chromosome 17 à la position 25.1(Weil , *et al .*, 2003)il code pour une protéine appelée SANS qui est présente dans les cellules de l'oreille interne et de la rétine ou elle interagit avec d'autre protéine formant un grand complexe protéique essentiel pour le développement et la fonction de l'oreille interne et la rétine

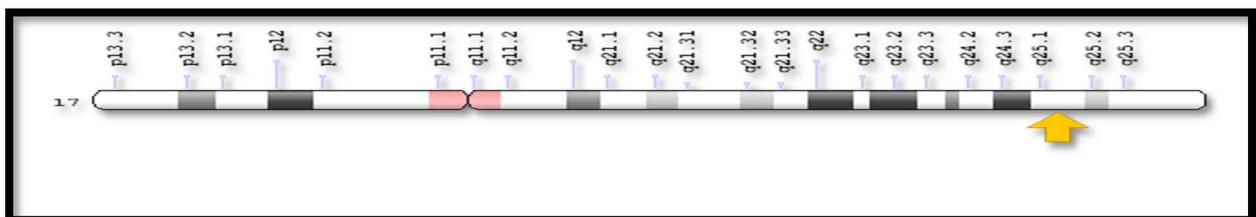


Figure 34: localisation chromosomique du gène USH1G
[Genetics Home Reference]

VIII-1-2- TYPES 2 DE SYNDROME D'USHER :

- Le gène USH2A :

Il est responsable de syndrome d'USHER de type 2A (USH2A)(Eudy,*et al .*,1998)il est situé sur le bras long du chromosome 1 à la position q41. C'est un long gène qui est formé de 72 exons. il code pour une protéine appelée Usherin .l'Usherin est un composant important des membranes basales des cellules de l'oreille interne et les cellules photo réceptrices de la rétine. Environ 70% de syndrome d'USHER de type 2 sont dus à des mutations dans USH2A (MIM608400)(Keats BJB *et al* 2004). (Kimberling, *et al.*, 1951). (Dreyer ,*et al .*,2008). (Besnard *et al* 2012).

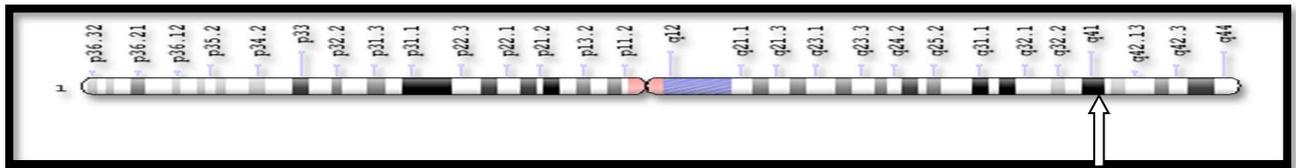


Figure 35: localisation chromosomique du gène USH2A
[Genetics Home Reference]

- Le gène USH2C :

Appelé aussi GPR98 « Gprotein-coupled receptor98 », il est responsable du syndrome d'USHER de type 2C (USH2C). il est situé au niveau du bras court du chromosome 5 à la position q14.3.c'est un grand gène qui est composé de 90 exons. Il code pour une protéine de 1967 aa appelée GPR98(récepteurs couplés aux protéines G98). Chez l'homme, cette protéine est également appelée VLGR1 ou très grand G récepteur couplé à la prteine-1(Weston.,2004).Cette protéine se trouve dans l'oreille interne ou elle joue un rôle dans le développement et le maintien de la cochlée et au niveau de la rétine ou elle intervient dans le développement et le maintien des cellules photo réceptrices.

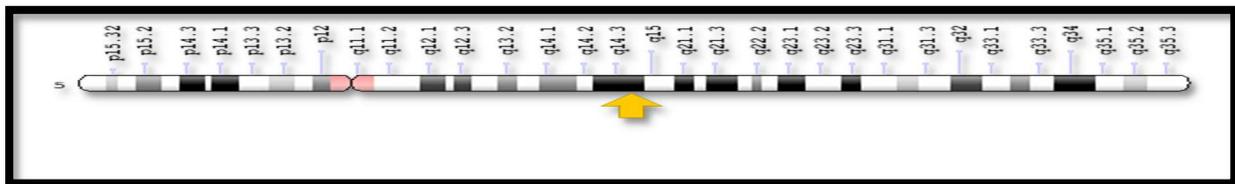


Figure 36 : localisation chromosomique du gène USH2C
[Genetics Home Reference]

- LE GENE USH2D :

Il est responsable du syndrome d'USHER de type2D (Ebermann, et *al .*, 2007).il a d'abord été décrit comme responsable de surdité isolée, (Mustapha, et *al .*, 2002).il n'est pas une cause majeure de syndrome d'USHER (Aller et *al .*, 2010).il est situé au niveau du bras long du chromosome 9 à la position32.il est composé de 12 exons .il code pour une protéine de 90 acides aminés qui est la Whirline(Aller,et *al .*, 2010)qui joue un rôle important dans l'allongement des stéréocils et le développement des cellules ciliées de la cochlée.

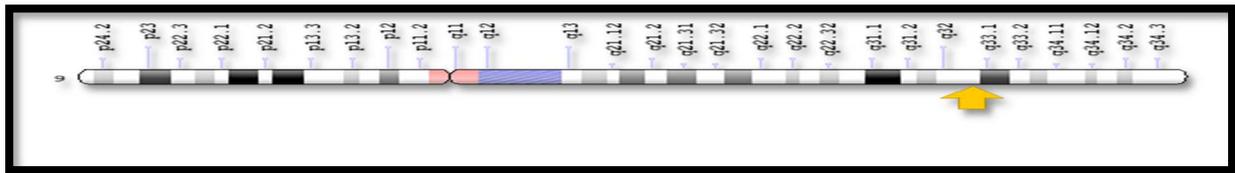


Figure 37 : localisation chromosomique du gène USH2D
[Genetics Home Reference]

- VIII-1-3- TYPES 3 DU SYNDROME D'USHER :

Le gène Clarin-1 (CLRN1) :

C'est le seul gène responsable du syndrome d'USHER type 3. Il est situé sur le bras long du chromosome 3 à la position 25. Il est formé de 6 exons, il code pour une protéine de 232 aa appelée Clarin-1 (Joensuu, *et al.*, 2001).

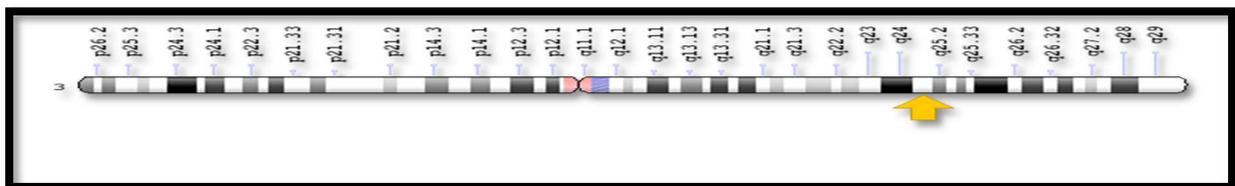
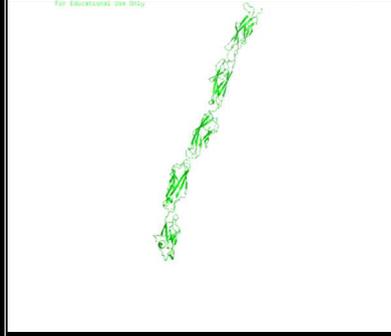
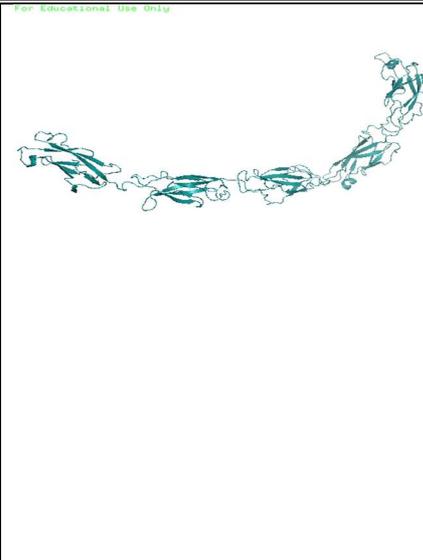
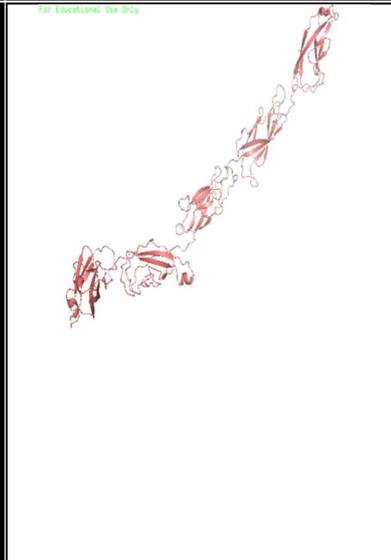
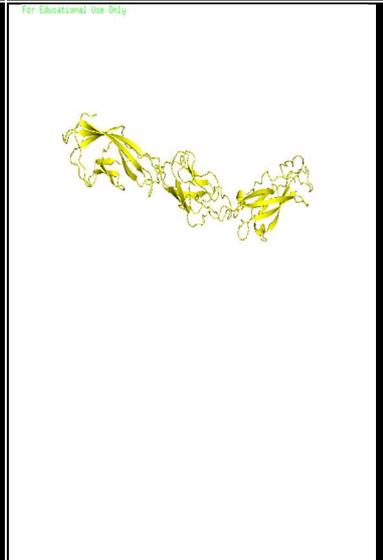
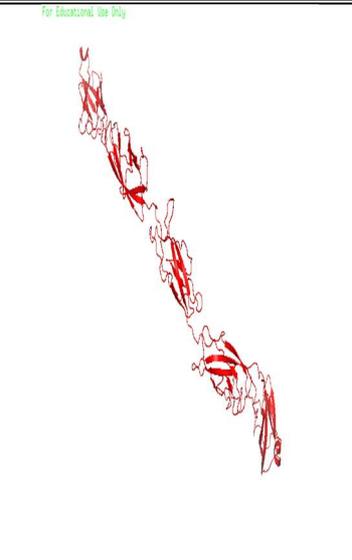


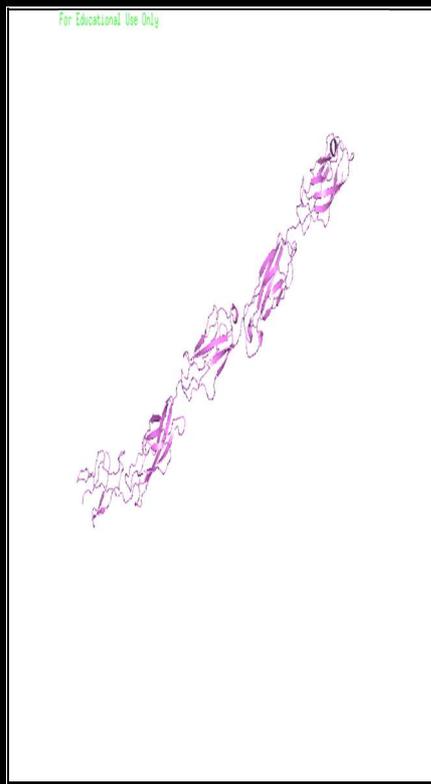
Figure 38 : localisation chromosomique du gène Clarin-1
[Genetics Home Reference]

Tableau XIII : Taille des gènes et des protéines impliquées dans le syndrome d'USHER

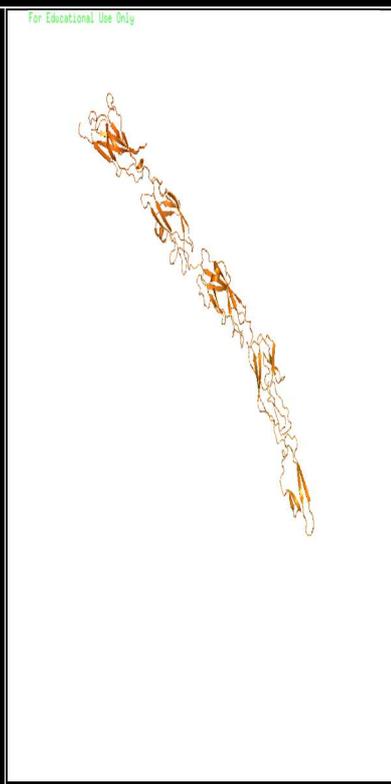
Gène	Nombre d'exons	protéine	Nombre d'aa
USH1B	48	MYO7A	2215
USH1C	27	Harmonine	910
USH1D	69	Cadherine 23	3354
USH1F	33	Protocadherine 15 ou PCDH15	1955
USH1G	3	SNAS	460
USH3A	6	CLRN-1	232
USH2A	72	USH2A	5202
USH2C	90	VLGR1	6306
USH2D	12	WHRN	906

Tableau XIV : les 13 modèles obtenus par le serveur web Swiss- model

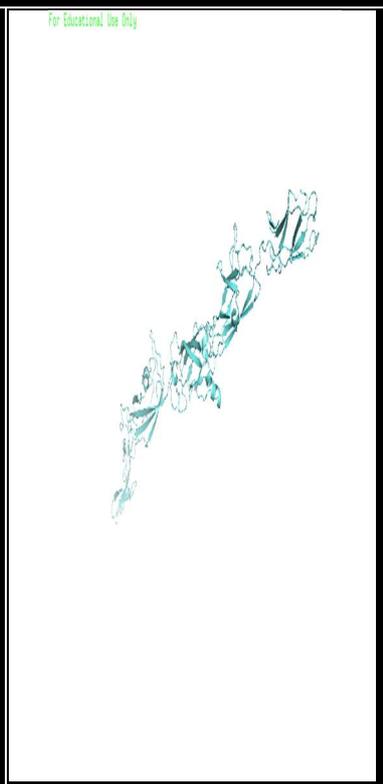
			
PCDH15-model 1-Swiss.pdb	PCDH15-model 2-Swiss.pdb	PCDH15-model 3-Swiss.pdb	PCDH15-model 4-Swiss.pdb
			
PCDH15-model 5-Swiss.pdb	PCDH15-model 6-Swiss.pdb	PCDH15-model 7-Swiss.pdb	PCDH15-model 8-Swiss.pdb



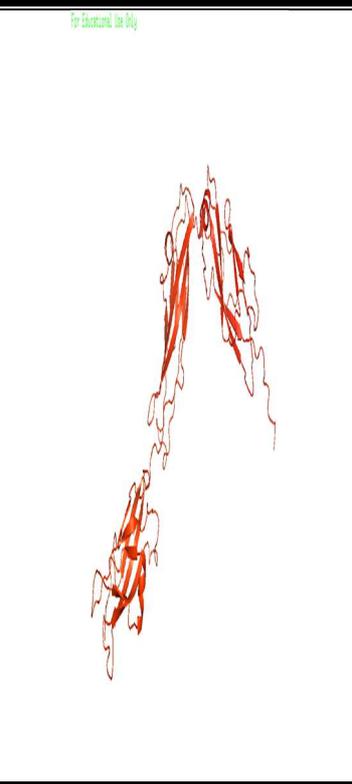
PCDH15-model 9-Swiss.pdb



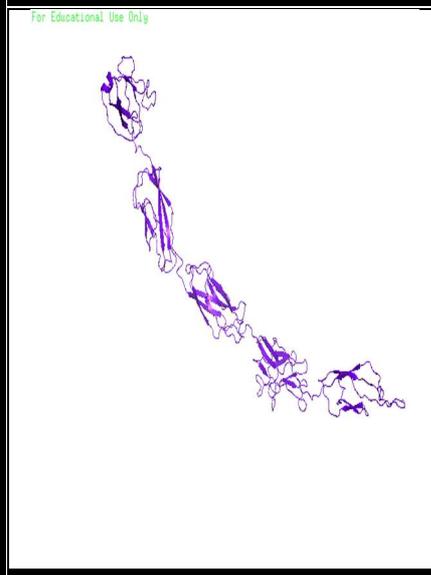
PCDH15-model 10-Swiss.pdb



PCDH15-model 11-Swiss.pdb



PCDH15-model 12-Swiss.pdb



PCDH15-model 13-Swiss.pdb

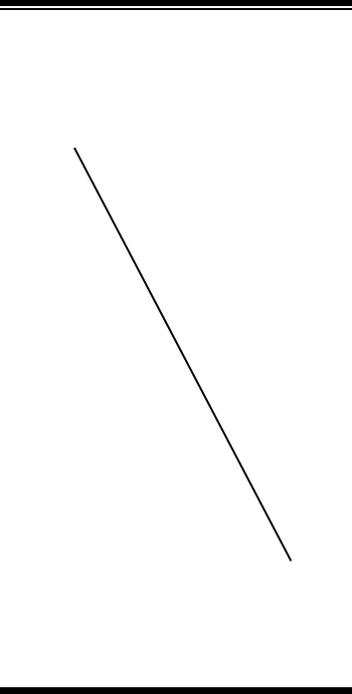
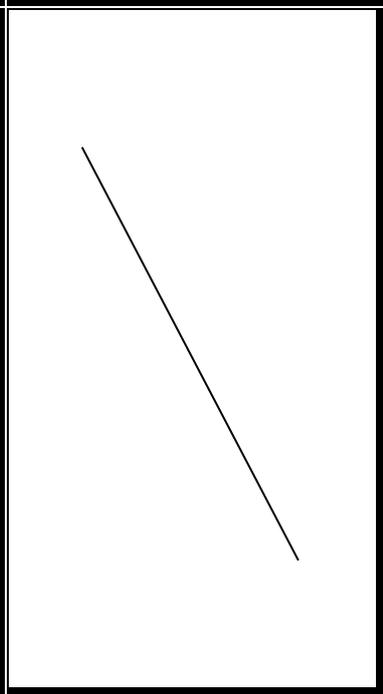
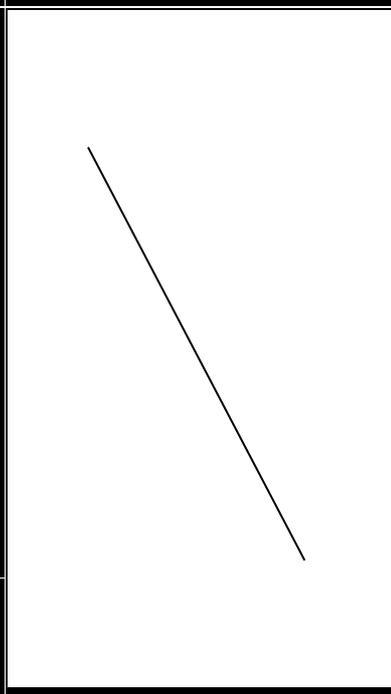
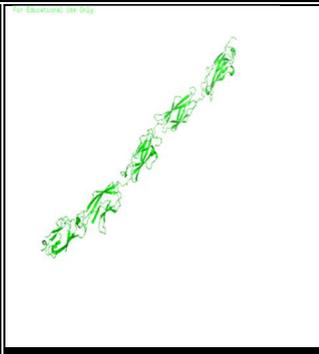
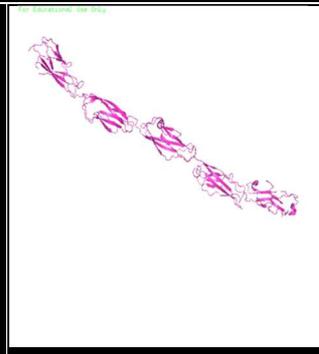
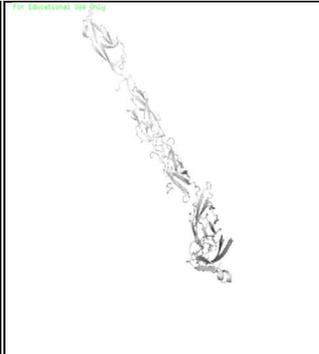
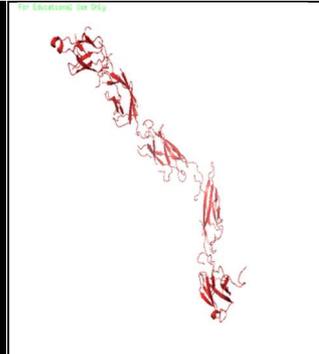
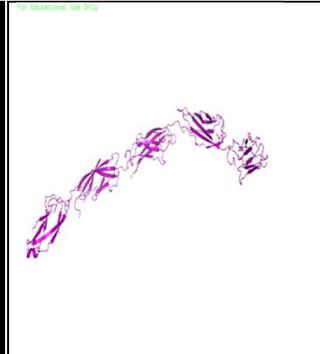
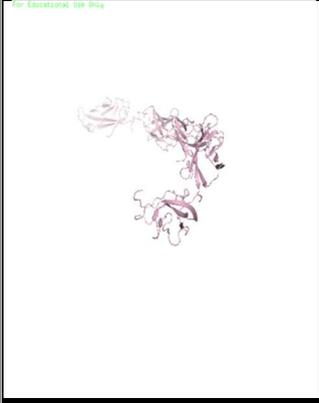
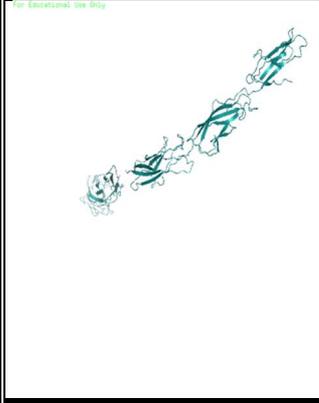
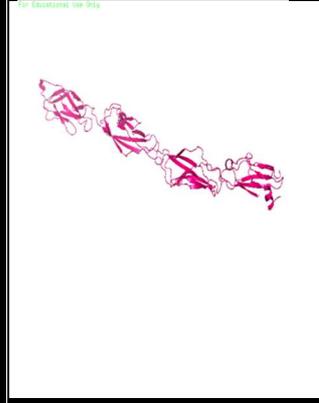
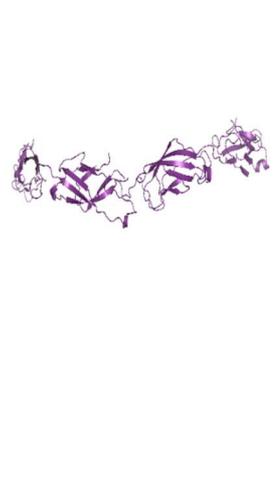
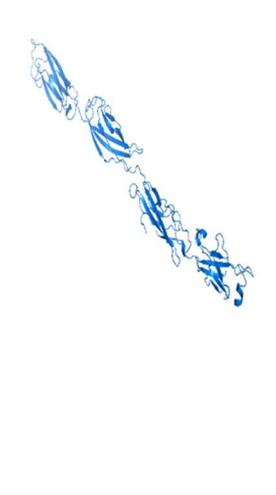
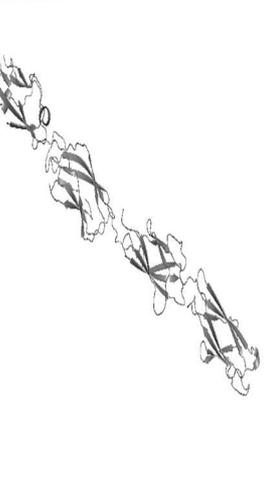
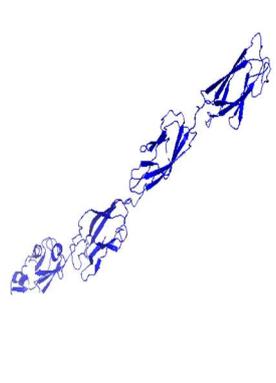
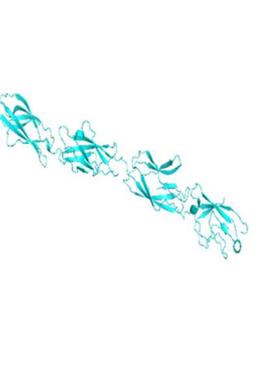
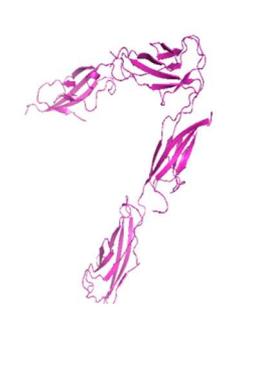


Tableau XV : les 20 modèles obtenus par le serveur web Phyre2

			
PCDH15-model 1 phyre .pdb	PCDH15-model 2 phyre .pdb	PCDH15-model 3 phyre .pdb	PCDH15-model 4 phyre .pdb
			
PCDH15-model 5 phyre .pdb	PCDH15-model 6 phyre .pdb	PCDH15-model 7 phyre .pdb	PCDH15-model 8 phyre .pdb
			
PCDH15-model 9	PCDH15-model 10	PCDH15-model 11	PCDH15-model 12

<p>phyre.pdb</p>	<p>phyre.pdb</p>	<p>phyre.pdb</p>	<p>phyre.pdb</p>
	<p>For Educational Use Only</p> 	<p>For Educational Use Only</p> 	<p>For Educational Use Only</p> 
<p>PCDH15-model 13 phyre.pdb</p>	<p>PCDH15-model 14 phyre.pdb</p>	<p>PCDH15-model 15 phyre.pdb</p>	<p>PCDH15-model 16 phyre.pdb</p>
	<p>For Educational Use Only</p> 	<p>For Educational Use Only</p> 	<p>For Educational Use Only</p> 
<p>PCDH15-model 17 phyre .pdb</p>	<p>PCDH15-model 18 phyre .pdb</p>	<p>PCDH15-model 19 phyre .pdb</p>	<p>PCDH15-model 20 phyre .pdb</p>