

NOM :

Prénom :

Module Biologie Computationnelle, M2R ADAM 2017/2018

Relations structure-fonction de protéines / Protéomique

La paroi végétale constitue une barrière contre l'invasion des champignons phytopathogènes. Un des moyens employés par les champignons pour envahir la plante est la dégradation des homogalacturonanes (polysaccharide de la paroi végétale) par des polygalacturonases. Pour se défendre, la plante exprime au niveau de sa paroi des protéines inhibitrices de polygalacturonases (PGIP).

Le sujet proposé concerne l'exploitation de données cristallographiques et de protéomique de PGIP végétales, dans le cadre de l'étude de leurs interactions avec des polygalacturonases fongiques (d'après Di Matteo et al., PNAS, 2003 et Lim et al., JPR, 2009).

La structure cristallographique de la protéine PGIP de haricot (*Phaseolus vulgaris*) a été résolue et est référencée dans la PDB sous le code 1OGQ.

Ouvrez le site de la PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>), téléchargez le fichier pdb de PGIP et ouvrez-le à l'aide du logiciel DS Visualizer.

Faire apparaître les éléments de structure secondaire sur la structure de la protéine (A) (View/Display style/Protein/Solid ribbon).

**Question 1** : S'agit-il d'une structure de protéine native ou recombinante ? Dans le cas d'une expression hétérologue, justifiez le choix de l'organisme hôte.

**Question 2** : Avec quelle résolution cette structure a-t-elle été obtenue ?

**Question 3** : Comment qualifieriez-vous le repliement global de cette protéine ? Décrivez brièvement l'enchaînement de ses éléments de structures secondaires ?

Dans la fenêtre Hierarchy (View/Hierarchy), faire apparaître le contenu de la seconde molécule notée A en cliquant sur la croix.

**Question 4** : De quelle nature sont les molécules notées NAG et où se situent-elles sur la protéine ? A quoi peuvent correspondre ces molécules ?

**Question 5** : Recherchez la séquence de la protéine sur le site PubMed/onglet protein (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>) en utilisant le code PDB (1OGQ). A l'aide de cette séquence (format FASTA), recherchez la présence de sites putatifs de *N*-glycosylation. Citez les sites putatifs trouvés et localisez-les sur la structure. Où se situent-ils ? Précisez la nature des molécules NAG pré-citées.

Pour répondre à cette question, rendez-vous sur le site <http://www.expasy.ch/tools/scanprosite/> Décliquez la case « exclude motifs with a high probability of occurrence », collez la séquence de la protéine PGIP dans la fenêtre « Protein to be scanned » puis cliquez sur « Start the scan ».

**Question 6** : Après action de la trypsine, quelle est la séquence des peptides potentiellement *N*-glycosylés (on considèrera les peptides les plus courts proposés) ?  
Donnez la masse de ces peptides sous forme non-glycosylée et glycosylée par le motif  $M_3XN_2F$

Données : masses moléculaires des sucres simples : N-acétylglucosamine (N), 203.08 Da ; mannose (M), 162.06 Da ; xylose (X), 132.04 Da et fucose (F), 146.06 Da.

Pour répondre à cette question, rendez-vous sur le site de Protein Prospector (<http://prospector.ucsf.edu/>) et cliquez sur l'onglet « MS-digest ». Gardez tous les paramètres par défaut et collez la séquence de la protéine dans la fenêtre « User protein sequence » puis cliquez sur « Perform Digest ». Recherchez le ou les peptides d'intérêt à l'aide de la fonction « Edition/Rechercher dans la page »

Question 7 : Peut-on analyser ce type de glycopeptides par spectrométrie de masse ? Si oui, citez le nom d'un outil permettant de réaliser cette d'analyse ?

Question 8 : Quel autre type de glycosylation peut exister sur ce type de protéine ? Sur quels acides aminés cette modification est-t-elle portée ?

Question 9 : Décrivez brièvement une stratégie permettant d'explorer le rôle fonctionnel des glycosylations de PGIP, *in vitro* et *in vivo*.