

Annales partie problème

Problème :

- 1) Vous avez séquencé un fragment d'ADN. L'analyse informatique de cette séquence révèle la présence d'un gène et vous permet d'obtenir sa séquence protéique. Expliquer la stratégie que vous adopteriez pour avoir une idée de la fonction de la protéine codée par ce gène. Justifier chacune des étapes.

Le résultat de la démarche que vous avez suivie au 1) indique que votre protéine présente des similitudes avec les ATP-binding cassettes des transporteurs ABC. Un transporteur ABC permet le transport actif à travers une membrane. Ces transporteurs sont trouvés aussi bien chez les eucaryotes que chez les procaryotes. Un transporteur ABC typique est constitué de deux domaines transmembranaires et de deux domaines ATP-binding. Les domaines ATP-binding lient l'ATP et couplent l'hydrolyse de l'ATP au processus de transport.

Les différents domaines d'un transporteur ABC peuvent être exprimés :

- comme des peptides séparés,
- comme un peptide multifonctionnel dans lequel les domaines sont fusionnés.

Les analyses expérimentales réalisées ont montré que différents types de fusion étaient rencontrés *in vivo*:

- deux domaines ATP-binding fusionnés,
- un domaine transmembranaire et un domaine ATP-binding fusionnés,
- deux domaines transmembranaires fusionnés,
- les quatre domaines fusionnés.

- 2) Les ATP-binding cassettes des transporteurs ABC se caractérisent par la présence de trois motifs. Deux motifs, le motif Walker A et le motif Walker B, sont présents dans une majorité d'ATPases. Le troisième motif est caractéristique des ATP-binding cassettes des transporteurs ABC et est appelé signature ABC. En Annexe I, l'alignement multiple sur ces trois motifs d'un ensemble d'ATP-binding protéines connues vous est donné. Déterminer à partir de cet alignement une signature de type PROSITE pour la signature ABC et le motif Walker A. Pensez-vous que le motif Walker B permette de bien caractériser cette famille ?
- 3) A la suite de la recherche que vous avez faite en 3), vous détectez la présence de 11 ATP-binding cassettes dans un génome appelé Bsub. Vous voulez approfondir l'étude de ces séquences. Pour cela vous recherchez leurs structures en domaines à l'aide de PRODOM (Annexe II). PRODOM est une banque de domaines protéiques comme Pfam. De plus, l'utilisation d'un programme de recherche de fragments transmembranaires vous révèle la présence d'un domaine transmembranaire dans les régions N-terminales des séquences YGAD, YWJA et YVCC. L'analyse des résultats de PRODOM vous a permis de déterminer les bornes des domaines ATP-binding dans vos protéines. Vous avez ensuite réalisé un alignement multiple uniquement sur ces domaines (Annexe III).
A l'aide de ces résultats et des différents types de fusion de domaines décrits ci-dessus, combien de classes différentes d'organisation pouvez-vous dégager ? Donnez les caractéristiques de ces classes et le nom des séquences y appartenant.
- 4) Remplacez sur l'alignement de l'Annexe III (directement sur le sujet) les trois motifs caractéristiques des ATP-binding cassettes.

ANNEXE I

	Walker A		signature ABC		Walker B	
dppD	GESGCGKSV	...	FSGGMR	QRIVIAMALI	CEPDILIADE	PTTALD
yurJ	GPSGCGKST	...	LSGGQR	QRVALGRSIV	REPKVFLMDE	PLSNLD
hisP	GPSGSGKTT	...	LSGGQK	QRVGIARALA	IHPDVLLFDE	PTAALD
yqgK	GPSGCGKST	...	LSGGQQ	QRLCIARALA	TNPDILLMDE	PTSALD
yxdL	GPSGSGKTT	...	VSGGQR	QRAAIARAVI	HKPSLILADE	PTGNLD
yknY	GPSGSGKST	...	LSGGQK	QRVAIARAIV	NEPKLILADE	PTGALD
fhuC	GPNGCGKST	...	LSGGQR	QRVWIAMALA	QGTLLLLLDE	PTTYLD
ydbJ	GPNGSGKTT	...	YSLGMR	QRLGIAQAIL	HRPKLLILDE	PTNGLD
yfiL	GPNGAGKST	...	FSGGMK	RRINIGAALM	HKPELLIMDE	PTVGID
yfiC	GPTGAGKTT	...	ISQGQK	QLISIARAVL	ADPVLLILDE	ATSNID
yheH	GHTGSGKSS	...	LSSGER	QLISFARALA	FDPAILILDE	ATAHID
ftsE	GPSGAGKST	...	LSGGEQ	QRVSIARSIV	NNPDVVIAD	PTGNLD
natA	GENGAGKTT	...	FSKGMR	QKVAIARALI	HDPDIILFDE	PTTGLD
ybxA	GHNGSGKST	...	LSGGQK	QRVAIAGVIA	ARPDIIILDE	ATSMLD
ycdI	GPNGASKST	...	LSGGQK	QKICIAFMLA	SNPDLLMLDE	PTFAVD
ybdA	GPNGAGKTT	...	LSRGQK	QRVVLGAIIV	QDALLYILDE	PTVGLD
cydC	GASGAGVST	...	LSGGQA	QRVALARAFI	GNRPILLLDE	PTAHLI
ytrB	GRNGSGKTT	...	LSTGLK	KQLSLVLSFA	ARPALILLDE	PTDGID
ylmA	GLNGAGKTA	...	LSQGEK	QRALIAALM	ADPELLILDE	PITGLD

L'alignement en N-terminal précédant le motif Walker A, l'alignement en C-terminal suivant le motif Walker B et l'alignement entre le motif Walker A et la signature ABC ne sont pas représentés. Les . . . remplacent N résidus alignés entre les 2 motifs.

ANNEXE II Résultats de PRODOM



