

NOM :

Prénom :

Module Biologie Computationnelle, M2R ADAM 2018/2019

Relations structure-fonction de protéines / Protéomique

Les **expansines** sont des protéines non enzymatiques de la paroi végétale. Elles sont capables de se lier aux polysaccharides de la paroi, de les désorganiser localement et de permettre ainsi les réarrangements structuraux mis en place au cours de l'élongation cellulaire.

Le sujet proposé concerne l'exploitation de données cristallographiques et de protéomique de l'expansine de maïs.

Ouvrez le site de la PDB (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>), téléchargez le fichier pdb de l'expansine de maïs EXPB1 répertoriée sous le code 2HCZ et ouvrez-le à l'aide du logiciel DS Visualizer.

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

**Question 1** : S'agit-il d'une structure de protéine native ou recombinante et quelle est sa résolution ?

Dans la fenêtre Hierarchy (View/Hierarchy), faire apparaître le contenu des deux premières molécules notées X en cliquant sur la croix (ne pas considérer celle correspondant aux molécules d'eau).

**Question 2** : De quelle nature biochimique sont ces 2 entités ? Listez les 7 composés de la seconde molécule X.

Question 3 : A quoi la seconde molécule X peut-elle correspondre ? Décrivez précisément la liaison entre la protéine et cette molécule (nom et n° d'acide aminé, type de liaison) et dessinez-la.

Question 4 : Quelle différence majeure apparaîtrait sur cette structure si EXPB1 avait été exprimée dans *E. coli* ?

Des expériences de modélisation moléculaire ont permis de révéler la présence d'un site de fixation des polysaccharides. Les acides aminés impliqués dans ce site sont classés en 2 groupes :

- groupe 1 : W26, Y27, Y160 et W194.
- groupe 2 : T25, D37, D95, D107, N157, S193 et R199

Question 5 : Où ces acides aminés sont-t-ils situés sur la structure ? De quelle nature seront les interactions entre les polysaccharides et les acides aminés de chacun de ces 2 groupes ?

**Question 6** : Quelle expérience proposeriez-vous pour déterminer individuellement le rôle de ces acides aminés dans la fixation des polysaccharides ?

Recherchez sur Uniprot (<https://www.uniprot.org/>) la séquence primaire de l'expansine de maïs EXPB1 suivante :

```
KVPPGXNITTTNYNGKWL TARATWYGQPNGAGAPDNGGACGIKNVNLPPYSGMTACGNVPIFKDGKCGS  
CYEVRCKEKPECSGNPVTVYITDMNYEPIAPYHFDLSGKAFGLAKPGLNDKIRHCGIMDVEFRRVRCKYPA  
GQKIVFHIEKGCNPNYLAVLVKYVADDGDIVLMEIQDKLSAEWKPMKLSWGAIWRMDTAKALKGPFSIRLTS  
ESGKKVIAKDVIPANWRPDAVYTSNVQFY
```

**Question 7** : Cette protéine renferme-t-elle un ou des sites de *N*-glycosylation potentiels ? Si oui, lesquels ? Entourez le ou les sites correspondants sur la séquence ci-dessus. Quel acide aminé est supposé porter la glycosylation ?

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

**Question 8** : Quelle est la masse attendue pour le ou les peptides potentiellement *N*-glycosylés après action de la trypsine ? (on ne considèrera aucun miscleavage et aucune modification d'acide aminé). Donnez la séquence du ou des peptides correspondants. Rappelez après quels acides aminés la trypsine coupe-t-elle.

Pour répondre à cette question, rendez-vous sur le site de Protein Prospector (<http://prospector.ucsf.edu/>) et cliquez sur l'onglet « MS-digest ».

Question 9 : Quelle serait la masse de ce(s) peptide(s) s'ils portaient un glycane composé de 2 N-acétylglucosamine (NAG, PM = 203.08 Da), 3 mannose (MAN, PM = 162.06 Da), 1 xylose (XYS, 132.04 Da) et 1 fucose (FCA, PM = 146.06 Da) ?

Question 10 : Peut-on analyser ce type de glycopeptide par spectrométrie de masse ? Si oui, citez le nom d'un outil permettant de réaliser cette analyse ? Quelle expérience complémentaire proposeriez-vous pour confirmer qu'il s'agit bien d'une glycosylation.