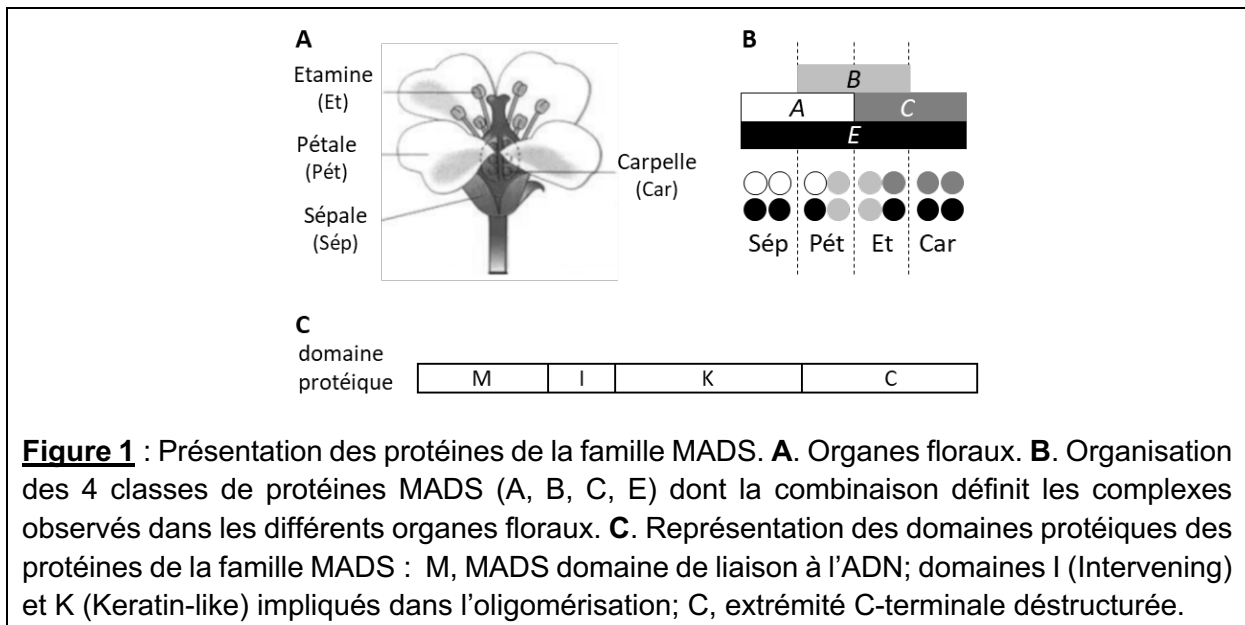


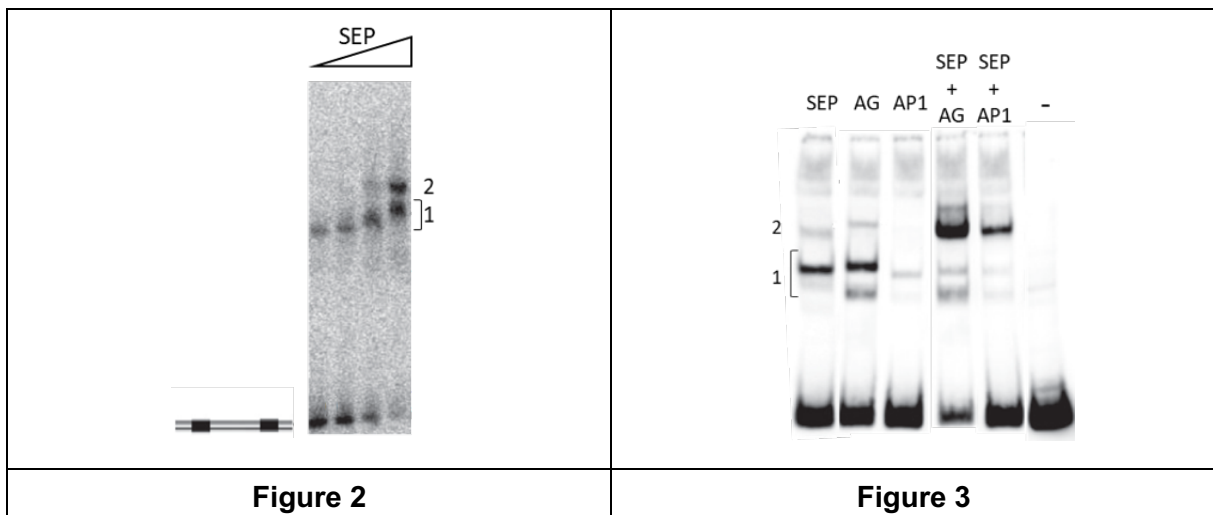
UE L3 Biochimie Structurale et Fonctionnelle
Examen de décembre 2022

Chez les plantes, les facteurs de transcription de la famille MADS sont capables d'interagir entre eux pour former différents complexes protéiques. Ces différents complexes sont responsables de la définition de l'identité des organes floraux (Figure 1). Les protéines **SEP** (classe E) sont impliquées dans tous les complexes. Dans le cas des sépales on les trouve en interaction avec la protéine **AP1** (classe A) et dans les carpelles en interaction avec la protéine **AG** (classe C).



I - Mise en évidence de complexes protéines-ADN

Une analyse par retard sur gel a été réalisée pour caractériser les interactions entre les protéines et le promoteur du gène *SEP* qui comporte 2 motifs appelés *CArG*-box reconnus par les protéines à domaines MADS (Figures 2 et 3) :



III- Caractérisation enzymatique de la DNase I

La DNase I hydrolyse les liaisons phosphodiester de l'ADN pour former deux oligonucléotides avec des extrémités 5'-phospho et 3'-hydroxy. Une étude a identifié des variants présentant une hyperactivité par rapport à la forme sauvage (Figure 5) :

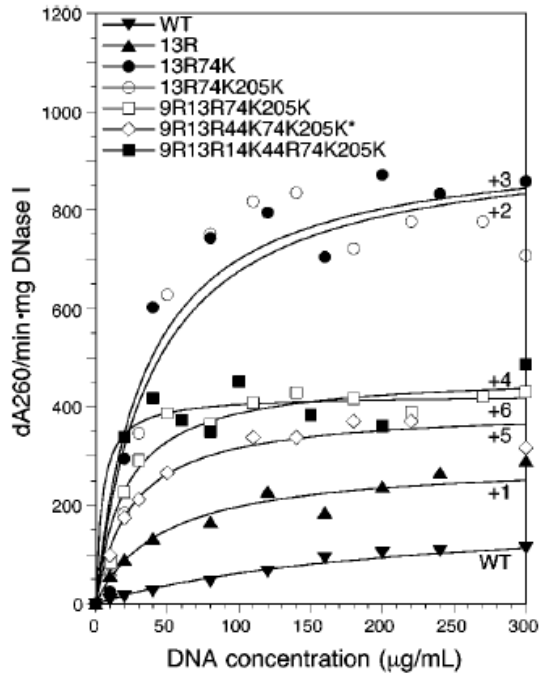


Figure 5 : L'activité de variants de la DNase I comportant 1 à 6 mutations ponctuelles est comparée à l'activité de la forme sauvage de la protéine (WT). Le mutant 13R signifie que le résidu en position 13 a été remplacé par un résidu R. La même nomenclature est utilisée pour les autres mutations. Le test enzymatique est basé sur la mesure de la différence d'absorbance à 260nm (dA260) qui augmente en fonction de la dégradation de l'ADN.

- Illustrez la réaction catalysée par la DNase I : Représentez une liaison phosphodiester reliant 2 nucléotides dans un brin d'ADN et les produits de la réaction.
- A laquelle des 6 classes d'enzyme appartient la DNase I ?
- Quelle est la caractéristique commune à toutes les mutations des variants Figure 5 ?
- En quoi peuvent-elles influencer l'interaction avec l'ADN ?
- Quelle équation explique les courbes représentées sur la Figure 5 ?
- Quelle(s) valeur(s) ces courbes permettent-elles de déterminer ? Justifiez.
- Sachant que les différentes courbes ont été obtenues avec la même concentration initiale en DNase I, expliquez pourquoi les valeurs atteintes au plateau varient.

IV- Analyse de l'interaction protéine-ADN

La structure du complexe entre un domaine MADS et une séquence ADN cible a été résolue par cristallographie (Figure 6) :

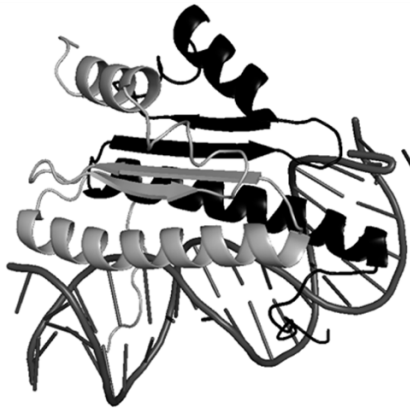


Figure 6 : Représentation en ruban (cartoon) d'un complexe MADS/ADN (code PDB 1C7U).

- Décrivez la structure du complexe (nombre de chaînes polypeptidiques, mode d'interaction entre chaînes polypeptidiques, mode d'interaction protéine/ADN...)
- Quelle longueur (en paires de bases et en Å) fait approximativement l'oligonucléotide présent dans ce complexe ?
- Faites le diagramme topologique de la protéine. N'oubliez-pas de numéroté indépendamment brins et hélices. Représentez les différentes sous-unités sur le même diagramme. Indiquez quel(s) élément(s) de structure secondaire interagi(ssen)t avec l'ADN.

V- Conservation du domaine MADS

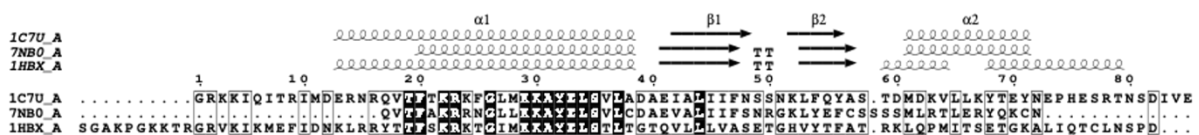


Figure 7 : Alignement de séquences de domaines MADS

- Quelle(s) conclusion(s) tirez-vous de la Figure 7 ?