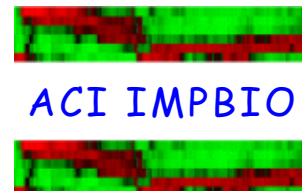
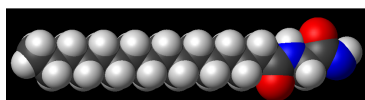


MYRISTILOMES

Projet de recherche 2004



Prédiction de N-myristylation de protéomes eucaryotes par une approche combinant analyses *in silico* et *in vitro*

<http://www.isv.cnrs-gif.fr/tm/maturation/impbio.html>

Contexte

La N-myristylation est une modification lipidique importante qui affecte l'activité et les propriétés de liaison à la membrane des protéines. Cette modification est essentielle à la viabilité cellulaire puisqu'elle touche un grand nombre de protéines impliquées dans la transduction du signal, la défense immunitaire innée et l'apoptose.

La réaction, réalisée par la N-myristyl transférase (NMT), consiste en l'addition irréversible d'un acide gras saturé à la glycine N-terminale d'une protéine cible. La spécificité de la NMT a été étudiée chez la levure et a conduit à l'établissement d'un motif consensus (Prosite 00008). On estime qu'environ 0,5-1,5% des protéines d'un protéome donné sont myristylées.

L'annotation actuelle des génomes repose sur l'utilisation du consensus déterminé chez la levure et n'est absolument pas satisfaisante car le motif est très imparfait, et d'autre part la spécificité de la NMT varie suivant les espèces. En particulier, elle est différente chez la plante *Arabidopsis thaliana* et chez l'homme de celle de la levure. Ceci a permis le développement d'inhibiteurs sélectifs de NMT de champignons pathogènes (antifongiques) utilisables dans le traitement des maladies opportunistes de l'homme. D'autres pathologies, comme le paludisme, pourraient être combattues de la même façon si on connaissait la spécificité de l'enzyme associée à chaque agent causal.

Objectifs

Notre projet vise à développer une combinaison d'approches informatiques et biochimiques permettant l'annotation précise de la N-myristylation dans les génomes eucaryotes et l'étude génomique comparative de ce processus.

Projet

La stratégie développée est la suivante :

- ✓ Définition et synthèse d'un "jeu" de peptides standards optimisé pour échantillonner l'espace des séquences peptidiques.
- ✓ Test robotisé de l'activité de N-myristylation de ces peptides standards avec différentes NMT (*A. thaliana*, Homme...).
- ✓ Développement de modèles de reconnaissance à partir des données expérimentales (expressions régulières et automates).
- ✓ Analyse *a priori* des propriétés combinatoires de ces modèles (pertinence & expressivité).
- ✓ Prédiction et classification de l'ensemble des séquences myristylées dans chaque protéome (le N-myristylome).
- ✓ Validation expérimentale sur chaque protéome.
- ✓ Analyse de la robustesse des prédictions par l'étude comparée des myristylomes chez différentes espèces.
- ✓ Analyse comparée des paramètres des modèles de prédiction.

Mots-clefs

Myristylation, annotation, protéome, modifications post-traductionnelles, automates

Laboratoires impliqués

Institut des Sciences du Végétal,
UPR2355 CNRS, Gif/Yvette
Laboratoire d'Informatique de Polytechnique,
FRE 2653 CNRS, Palaiseau
Cristallographie & RMN Biologiques,
UMR 8015 CNRS/Université Paris 5

Résultats

- ✓ TermiNator, un outil de prédiction de la nature du N-terminus incluant la N-myristylation a été mis au point : <http://www.isv.cnrs-gif.fr/Terminator/>

- ✓ Les deux formes de NMT humaine ont été purifiées

- ✓ L'espace des séquences "myristylables" a été modélisé

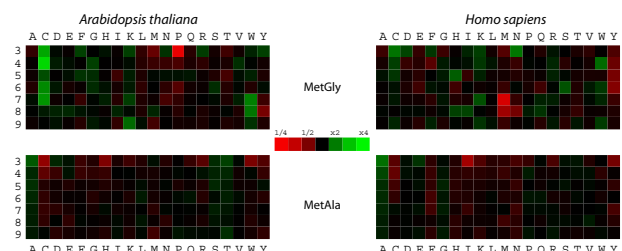
On introduit une métrique dans l'espace des séquences N-terminales du protéome considéré, basée sur les matrices de substitution (BLOSUM, PAM)

On se place dans un espace de dimension 8 paramétrisé par les acides aminés 3 à 8 de la séquence.

On partitionne l'espace suivant un algorithme de type Voronoï pour identifier les clusters et localiser les séquences positives (myristylées) ou négatives (non-myristylées) déjà connues

Objectif : fournir un échantillon de séquences échantillonnant de manière optimisée l'espace des séquences et permettre de faire des tests biochimiques

- ✓ Biais dans la composition N-terminale des protéines : Une signature de la N-myristylation ?



Calendrier

- Été 2005 : synthèse de l'échantillon représentatif de peptides (~50-100 peptides)
- Rentrée 2005 : mise en place de la robotisation, tests de myristylation
- Fin 2005-début 2006 : Analyse des données construction et affinement des modèles

Publications

Meinzel T, Peynot P & Giglione C (2005) *Processed N-termini of mature proteins in higher Eukaryotes and their major contribution to dynamic proteomics* **Biochimie**, sous presse

Points de départ du projet

Boisson B & Meinzel T (2003) **Anal Biochem** 322: 116-23

Boisson B, Giglione C & Meinzel T (2003) **J Biol Chem** 278:43418-29