



**HAL**  
open science

## Faut-il prendre en compte les semi-tryptiques dans la protéomique de la graine ?

Virginie Lollier, Hélène Rogniaux, Dominique D. Tessier, Colette C. Larre,  
Valentin Estreguil

### ► To cite this version:

Virginie Lollier, Hélène Rogniaux, Dominique D. Tessier, Colette C. Larre, Valentin Estreguil. Faut-il prendre en compte les semi-tryptiques dans la protéomique de la graine ?. Atelier Prospectom, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS). Grenoble, FRA. Université Joseph Fourier (Grenoble 1) (UJF)., Nov 2014, Grenoble, France. hal-02801945

**HAL Id: hal-02801945**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02801945>**

Submitted on 5 Jun 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# Faut-il prendre en compte les semi-tryptiques dans la protéomique de la graine ?

Virginie LOLLIER, Hélène ROGNIAUX, Colette LARRÉ, Valentin ESTRÉGUIL, Dominique TESSIER  
 INRA UR 1268 Biopolymères, Interactions, Assemblages, plate-forme BIBS (Nantes, France)  
 Contacts : virginie.lollier@nantes.inra.fr, dominique.tessier@nantes.inra.fr

L'analyse protéomique par spectrométrie de masse conduit parfois à l'identification de peptides partiellement tryptiques lorsque l'enzyme protéolytique utilisée est la trypsine

Ces peptides dits semi-tryptiques peuvent avoir plusieurs origines :  
 • Fragmentation à l'interface de la source d'ionisation  
 • Mauvaise qualité de la trypsine  
 • Coupures terminales par des protéases endogènes de l'échantillon

La graine étant un organe de réserve, elle renferme de nombreuses protéases qui lui permettent de mobiliser ses réserves au moment de la germination

3 organismes ont été étudiés : Brachypodium distachyon (fraction albumine/globuline de la graine), cellules neutrophiles de souris et une micro-algue. Tous les échantillons ont été traités avec des anti-protéases avant d'être analysés par LC-MS/MS (Orbitrap), dans les mêmes conditions.

Recherche XITandem	% semi-tryptiques		
	Brachypodium	Souris	Micro-algue
Semi	61	32	32
Semi en « Refine »	18	19	18
Non Semi	2	1	1

Lorsqu'il est spécifié au programme de rechercher systématiquement des peptides semi-tryptiques parmi les candidats possibles, le pourcentage obtenu est beaucoup plus important pour la graine

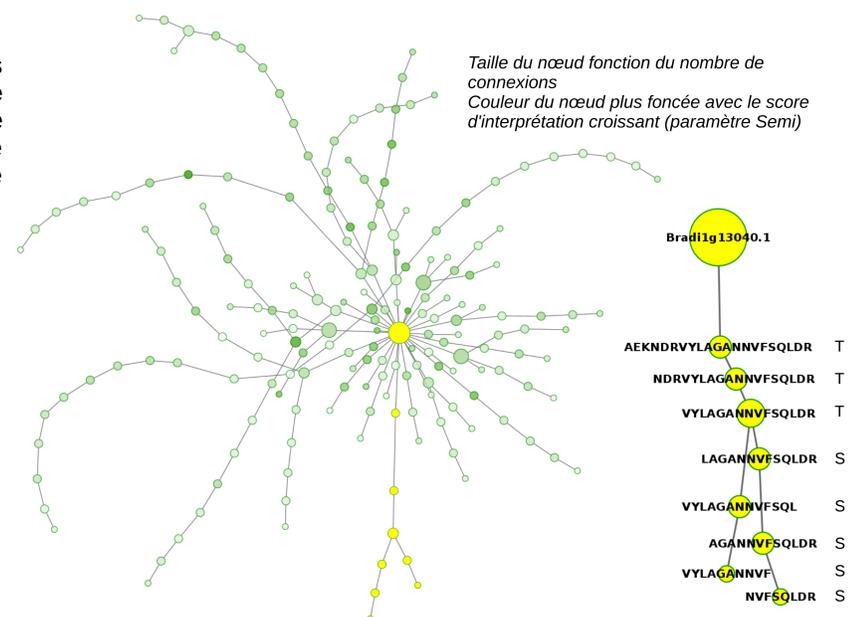
Les semi-tryptiques identifiés avec le paramètre non-semi sont soit des peptides produits par l'acide formique, soit des peptides modifiés par l'acétylation de la méthionine en N-terminal.

Pour certaines protéines très abondantes comme Bradi1g13040.1, protéine de réserve de la graine, l'inclusion des peptides entre eux témoigne d'une dégradation progressive aux extrémités des longs peptides

Avec la recherche « Semi » de XITandem, les pourcentages de **semi-tryptiques dont la séquence n'est pas incluse dans un autre peptide**, tryptique ou non et identifié dans la même analyse, sont de **95 %** pour l'échantillon de graine et l'échantillon de micro-algue, et de 99 % pour l'échantillon de souris.

Les semi-tryptiques dont la séquence est incluse dans un autre peptide correspondent principalement aux protéines les plus abondantes de la graine. Mais les protéines abondantes ne sont pas nécessairement associées à de nombreux peptides semi-tryptiques

L'interprétation de ces semi-tryptiques inclus dans un autre peptide aurait tendance à être plus fiable que les semi-tryptiques « orphelins », par de meilleurs scores et p-values.



> XITandem version « sledge hammer » (2013.09.01.1), paramètres par défaut en-dehors de la recherche des semi-tryptiques et de la coupure enzymatique par la trypsine

> Utilisation de Talend pour parser les sorties XML de XITandem et classer les peptides en semi-tryptiques en l'absence de R ou K aux extrémités des séquences identifiées

> Annotation des peptides : S pour semi-tryptique, T pour tryptique

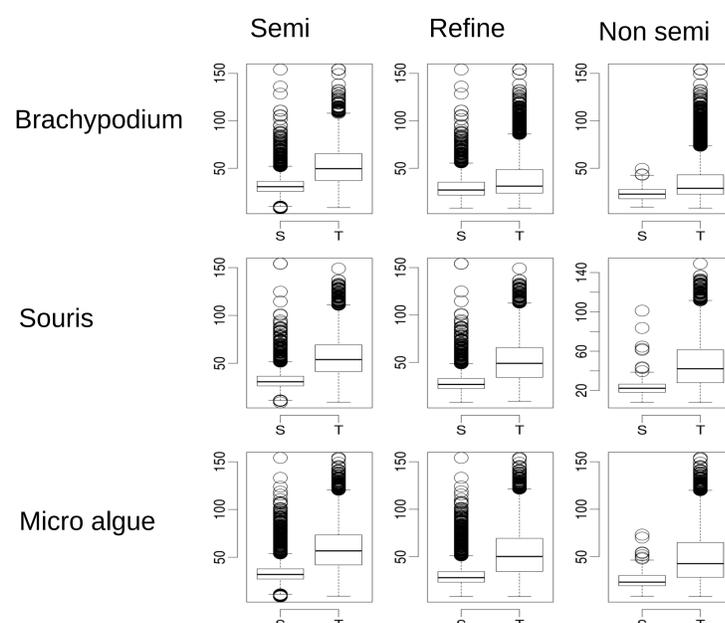
## Conclusion :

Dans la littérature, il n'existe pas de consensus sur la prise en compte des semi-tryptiques dans ce type d'analyse.

Pour les 3 organismes considérés, intégrer les semi-tryptiques dans l'interprétation des spectres renforce la confiance dans l'interprétation des spectres.

La proportion de 61% de semi-tryptiques dans le protéome de Brachypodium n'est pas encore complètement élucidée. Mais la présence de semi-tryptiques n'explique pas à elle seule la différence du protéome de la graine par rapport à d'autres types d'échantillon.

La distribution des scores d'interprétation est similaire entre les différents organismes étudiés et les semi-tryptiques ont en moyenne un mauvais score



Une ANOVA sur les peptides identifiés par les 3 conditions Semi, Refine et Non Semi, n'a pas montré d'effet significatif de ces conditions.

Une pratique courante dans l'interprétation des spectres par XITandem consiste à filtrer les résultats sur un seuil de p-value variant de 0.05 à 0.01.

A un seuil de 0.05, on réduit le pourcentage de semi-tryptiques obtenus sur Brachypodium à 12 et 14 % pour les paramètres Refine et Semi.

Seulement la moitié est commune aux 2 conditions (258 peptides). Une grande partie de ces semi-tryptiques communs est incluse dans un autre semi-tryptique ou dans un tryptique parent (215 peptides)

## Remerciements :

M. GARNIER – Physiologie et Biotechnologie des algues, IFREMER, Nantes  
 K. HAUROGNE – Immunologie-endocrinologie cellulaire et moléculaire, ONIRIS, Nantes

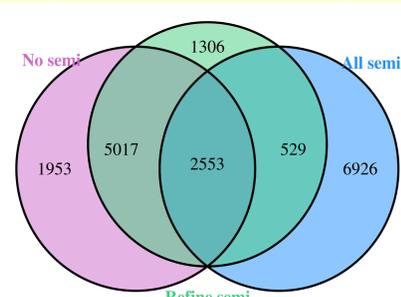
## Références :

Kim, J., et al. (2013) In-Source Fragmentation and the Sources of Partially Tryptic Peptides in Shotgun Proteomics, Journal of Proteome Research, 12, 910-916.

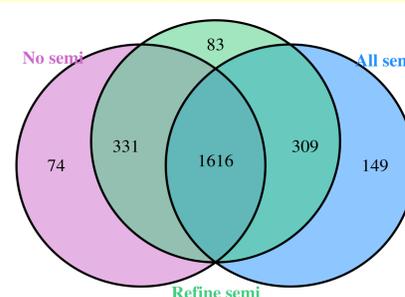
Wang, H., et al. (2011) Data analysis strategy for maximizing high-confidence protein identifications in complex proteomes such as human tumor secretomes and human serum, J Proteome Res, 10, 4993-5005.

Distribution des hyperscores pour les peptides tryptiques et semi-tryptiques selon l'organisme et le paramètre semi du programme.

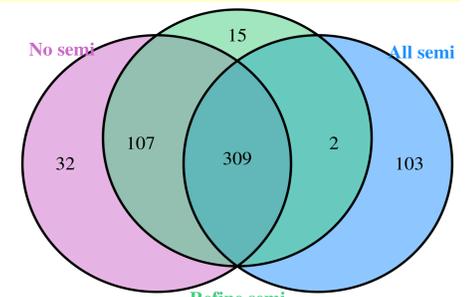
Avec ou sans seuil sur la p-value, les différents paramètres de recherche des semi-tryptiques peuvent conduire à une interprétation différente des spectres acquis sur Brachypodium.



Nombre de peptides communs, sans seuil de p-value



Nombre de peptides communs, avec seuil de p-value



Nombre de protéines communes, avec seuil de p-value