

Confirmation du modèle structural de la protéine 21kDa par cinétique enzymatique associée à la spectrométrie de masse

C. Teyssier¹, F. Schoentgen¹, C. Erkerskon² et F. Lottspeich²

¹ CBM, Rue Charles Sadron, 45 071 Orléans CEDEX 2.

² Proteinanalytik, Institut Max Planck de Munich, 82152 Martinsried, Allemagne.

Une protéine soluble, basique, de poids moléculaire 21 000 Daltons a été isolée à partir de la matière grise de cerveau de boeuf. Elle est constituée par une chaîne polypeptidique unique (1). Par référence à sa masse, elle est appelée 21kDa. Cette protéine semble être assez conservée dans le règne animal, elle a été ainsi retrouvée chez de nombreux mammifères et dans de nombreux tissus.

Selon les méthodes de prédiction de structures secondaires, elle contiendrait environ 36% de feuillets bêta, 35% de bêta turns et 6% d'hélices alpha. Une modélisation moléculaire a été effectuée par homologie avec le lobe N-terminal de la phosphoglycérate kinase de levure (2). Le modèle structural défini n'ayant pas encore été confirmé par des mesures expérimentales, nous avons procédé à des cinétiques de digestions enzymatiques afin de définir les sites protéolytiques accessibles dans la structure tridimensionnelle de la protéine. Cette étude a été réalisée successivement par les endoprotéases Lys-C et Asp-N. Les fragments protéiques obtenus, après purification par HPLC, ont été identifiés par ES-MS.

Les sites enzymatiques prioritairement accessibles, qui ont été observés, sont en accord avec la prédiction du site actif du modèle structural mais aussi avec d'autres résultats expérimentaux obtenus en ES-MS lors de l'étude de l'oxydation de la protéine 21kDa. Nous avons aussi mis en évidence des sites protégés de la protéolyse. Ces derniers doivent correspondre à une zone compacte de la protéine.

(1) F. Schoentgen, F. Saccoccio, J. Jollès, I. Bernier and P. Jollès (1987) *Eur. J. Biochem.* **166**, 333-338.

(2) F. Schoentgen, N. Seddiqi, S. Bucquoy, P. Jollès, L. Lemesle-Varloot, K. Provost and J.P. Mornon (1992) *Protein Engineering* **5**, 295-303.