TP Bio-informatiquen°1:

Comparaison des peroxydases de radis noir, radis rose et navet par utilisation des bases de données en ligne

Les biotechnologies disposent aujourd’hui de bases de données accessibles sur internet utiles pour trouver des informations. L’objectif de ce TP est :

* Dans une première partie, d’arriver à déterminer les caractéristiques de protéines par bio-informatique.
* Dans une deuxième partie, d’arriver à comparer les séquences des peroxydases du radis noir, radis rose et navet afin de déterminer les homologies de séquences entre ces trois enzymes.

Les peroxydases sont des enzymes très utiles pour les biotechnologies. Elles ont de nombreuses applications dont :

* leur utilisation dans les kits de dosage en biotechnologies : par exemple de nombreux tests ELISA utilisent des anticorps conjugués avec la peroxydase ;
* leur utilisation dans la dépollution d’eau industrielle riche en dérivés phénoliques qu’il faut éliminer car ces molécules peuvent polluer les eaux souterraines alors qu’elles sont dangereuses pour la santé humaine (cancérigènes).

En France, les radis et le navet sont des végétaux connus pour contenir une quantité importante de ces enzymes.

Dans un premier temps, vous chercherez sur les bases de données les caractéristiques des peroxydases du radis noir, du radis rose et du navet. Vous rassemblerez les informations obtenues en créant un tableau comparatif entre ces différentes peroxydases.

Dans un deuxième temps, vous vous intéresserez aux homologies de séquences entre ces trois enzymes.

# Recherche des caractéristiques des peroxydases de radis et navet par bio-informatique

L’objectif de ces recherches est de trouver un certain nombre d’informations qui vont permettre de nous aider à trouver un protocole de purification après extraction des peroxydases.

Le radis est une plante de l’espèce *Raphanus sativus*. Il existe différentes variétés de radis dont les petits radis (*Rhaphanus sativus*var.*sativus*), le radis noir (*Rhaphanus sativus* var.*niger*). La peroxydase peut également être extraite du navet (*Brassica rapa*), autre *Brassicaceae*.

## Recherche via la base de données Expasy

* Aller sur le site Expasy : « SIB Bioinformatics Resource Portal-Home »
* Sélectionne « UnitprotKB » dans la zone à droite de l’écran
* Entrer le nom de la protéine à rechercher : peroxidase + Nom latin du légume (radis) dans la zone en haut;
* Choisir la protéine d’intérêt en cliquant directement sur son numéro d’identification. La page contenant les informations sur cette protéine apparaît.
* Relever sur cette page les informations suivantes (en précisant la zone où vous avez trouvé l’information):
	+ numéro EC de l’enzyme;
	+ le nombre de résidus d’acides aminés de l’enzyme ainsi que la séquence de l’enzyme en utilisant le format “FASTA” (enregistrer cette séquence dans un document texte);
	+ relever les modifications post-traductionnelles;
	+ rôles de l’enzyme, réactions catalysées;
	+ le nom et la position des acides aminés impliqués dans le site actif de l’enzyme;
	+ relever les ligands (molécules capables de se fixer sur l’enzyme) puis expliquer le rôle de ces molécules.
	+ relever la masse molaire de l’enzyme
	+ relever le pI (point isoionique) de l’enzyme

## Mise en forme des données trouvées

Q1. Rassembler les informations récupérées dans la base de données sous la forme d’un tableau réalisé à l’aide d’un tableur.

Q2. Indiquer les informations qui vous semblent intéressantes pour envisager une méthode pour purifier la(les) peroxydase(s) que vous avez extraite(s).

# 2. Recherche des homologies de séquences entre les peroxydases de radis et de navet.

## 2.1 Réalisation d’alignements des séquences enregistrées au 1.1

Il s’agit de comparer les séquences des différentes peroxydases étudiés au 1., acide aminé par acide aminé afin de repérer des **homologies.**

* Aller sur le site du pôle bio-informatique lyonnais (PBIL) puis sélectionner “Multiple alignment with Clustal W”
* Dans la fenêtre vide, entrer chaque séquence enregistrée au format “FASTA”, dans la procédure précédente, sans oublier le titre précisé en début de séquence. **Entrer chaque séquence, aller à la ligne** (sans sauter de ligne).
* Cliquer sur “SUBMIT” pour aligner les séquences. La comparaison des séquences apparaît selon un code couleur, accompagné de signes précisant les homologies fortes ou faibles entre les séquences.

## Présentation des alignements

Q3. Présenter les alignements trouvés dans un document

Q4. En déduire le pourcentage d’homologie entre les enzymes comparées.

Q5. Conclure.