



Figure 1. Structure tridimensionnelle de la forme mature de la protéine DCC1 provenant de la plante terrestre *Arabidopsis thaliana*. En orange, l'extrémité N-terminale ; en vert, le domaine « thioredoxin-like » en en magenta, l'extension C-terminale. Les 4 cystéines sont colorées en rouge.

Attribuer un rôle aux DCC, protéines conservées et de fonction inconnue

Responsable scientifique : Linda DE BONT, UMR Interactions Arbres/Micro-organismes (IAM) 1136

Partenaires Labex : ASIA

Action thématique concernée : WP1

Contexte —

La photosynthèse et la respiration sont deux voies métaboliques indispensables chez les organismes photosynthétiques contrôlant leur équilibre énergétique. Comme la plupart des processus métaboliques, photosynthèse et respiration sont finement régulées par des mécanismes de réduction/oxydation (redox). Pourtant, parmi les centaines de protéines régulées par les échanges redox, un grand nombre n'a à ce jour aucune fonction assignée. Dans les protéines, la combinaison d'un motif CXXC (deux cystéines réactives séparées par deux autres acides aminés X) et d'un repliement thiorédoxine caractéristique des thiol:disulfure oxydoréductases est particulièrement adaptée aux réactions d'échanges dithiol-disulfure. La présence d'un motif CXXC dans des protéines de fonctions inconnues et prédites pour être localisées dans le chloroplaste ou la mitochondrie constitue donc une observation intéressante pour une éventuelle implication dans le métabolisme redox.

Objectifs —

Parmi les protéines de fonction inconnue chez *Populus trichocarpa*, nous avons identifié une petite famille de trois protéines que nous avons nommées DCC1-3 en raison de la présence d'un motif DXXCXXC conservé et qui possèdent une séquence potentielle pour le chloroplaste ou la mitochondrie. Le projet AC-DCC vise à réaliser une étude biochimique de la protéine DCC1 dans le but de caractériser de nouvelles voies à activité redox chez les végétaux.

Démarche —

Afin de caractériser biochimiquement la protéine DCC1, une démarche en trois temps a été initiée. Il s'agit de produire les protéines recombinantes correspondant aux formes matures de la protéine DCC1 afin d'entreprendre sa caractérisation biochimique et structurale. Puis, l'isolement des partenaires protéiques des DCC suivi de la caractérisation des interactions in vitro et in vivo permettra de définir le réseau d'interaction protéique des DCC.

Résultats marquants —

- DCC1 présente une faible activité réductase mais aucune activité oxydase n'a été détectée.
- Deux autres formes de la protéine ont été produites et purifiées : le domaine « thiorédoxine-like » (TRX-like) seul (voir Fig. 1, en vert) et le domaine thiorédoxine avec l'extrémité N-terminale (en vert et orange sur la Fig. 1 respectivement).
- Le domaine « thioredoxin-like » purifié seul présente l'activité réductase la plus importante des trois formes de DCC1 obtenues.
- Les trois formes obtenues sont oxydées par deux agents oxydants physiologiques (H_2O_2 et GSNO) et cette oxydation est réversible grâce à l'action de systèmes réducteurs physiologiques.

Principales conclusions incluant des points-clés de discussion —

L'analyse biochimique de DCC1 montre que celle-ci est sensible à deux agents oxydants et que cette oxydation est réversible par l'action de systèmes thiorédoxine et glutarédoxine. Néanmoins, l'analyse fonctionnelle n'a pas permis d'assigner une fonction à la forme mature de la protéine. Ainsi, deux autres formes de la protéine ont été produites et purifiées. L'une contient uniquement le domaine TRX-like et la seconde contient ce domaine et l'extrémité N-terminale prédite de la protéine. Les résultats montrent que le repliement TRX seul présente une activité réductase. Cependant, en présence de l'extrémité N-terminale, cette activité diminue.

Perspectives —

Le domaine TRX-like de DCC1 aurait une activité réductase mais l'extrémité N-terminale de la protéine influe sur cette activité. Afin de mieux comprendre le rôle de l'extension N-terminale de DCC1 (prédite comme non structurée), les analyses fonctionnelles doivent être poursuivies. L'analyse du réseau d'interaction de DCC1 devrait aider à comprendre la place de DCC1 dans le métabolisme végétal. Pour cela, une approche par Turbo-ID est prévue dans le but d'identifier ses partenaires protéiques.

Valorisation —

Les résultats obtenus ont été publiés dans une issue spéciale de « Free radical biology and medicine » suite à la sélection du résumé pour une présentation orale lors de la conférence « Redox Biology Congress » en août 2022 à Gand (Belgique). Les résultats ont aussi été présentés à l'occasion du « doc-postdoc day » de l'UMR1136 IAM sous forme de poster en septembre 2022 par Natacha Donnay, la doctorante recrutée.

Effet levier du projet —

Grâce au projet AC-DCC, une collaboration avec Dr. Hakim Mireau (IJPB, Versailles) a été entreprise dans le but d'établir le réseau d'interaction de DCC1.