

A60

Étude de l'importance fonctionnelle du mouvement de type "thumb-loop" chez la xylanase B

Nhung Nguyen Thi & Nicolas Doucet

INRS-Institut Armand-Frappier, Université du Québec, 531 Boul. des Prairies, Laval, Québec, Canada.

Les xylanases sont impliquées dans la dégradation de l'hétéroxylane (hémicellulose), l'un des principaux composants des parois cellulaires végétales. Ces enzymes forment un groupe de biocatalyseurs hautement homologues et présentant une structure conservée de type " β -jelly-roll". Les structures cristallines et les simulations de dynamique moléculaire en présence et en absence de ligand ont démontré l'existence d'un mouvement de type "thumb-loop" à proximité du site actif, qui pourrait jouer un rôle important dans la liaison du substrat et/ou de la catalyse enzymatique. La présente étude décrit l'attribution des résonances ainsi que des expériences de dispersion de relaxation RMN associées à l'étude de la dynamique chez la xylanase B (XlnB) de *Streptomyces lividans* dans sa forme libre et liée. Nos données ^{15}N -CPMG démontrent que les motions moléculaires à l'échelle de temps de la catalyse enzymatique se localisent principalement aux extrémités (brins β_2 , β_3 , β_4), qui forment le site catalytique. Étonnamment, aucun mouvement à l'échelle de temps de la milliseconde n'est observé sur la "thumb-loop" ou dans son environnement immédiat. Alors que la liaison du xylobiose démontre l'importance des résidus "thumb-loop" dans la reconnaissance du ligand, la flexibilité de ce motif spécifique ne semble pas jouer un rôle important dans l'événement catalytique. Toutefois, nos résultats démontrent la présence d'un échange conformationnel aux extrémités, notamment sur l'un des murs du site actif de la XlnB, suggérant l'existence d'un mouvement de « pincement » dans la structure. Nos données ^{15}N -CPMG indiquent des mouvements très similaires pour l'enzyme libre et liée, ce qui suggère que le comportement dynamique de l'enzyme permet l'échantillonnage de la forme liée minoritaire même en absence de ligand, supportant le modèle de sélection conformationnelle.