

# 1<sup>ère</sup> structure 3D d'une $\beta$ -défensine d'oeuf

Hervé MEUDAL<sup>(1)</sup>, Virginie HERVE-GREPINET<sup>(2)</sup>, Valérie LABAS<sup>(3)</sup>,  
Agnès DELMAS<sup>(1)</sup>, Yves NYS, Céline LANDON<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS UPR4301, rue Charles Sadron, F-45071 ORLEANS cedex 02; <sup>(2)</sup> INRA, UR83, Recherches Avicoles, F-37380 Nouzilly; <sup>(3)</sup> Plate-forme de Protéomique Analytique et Fonctionnelle INRA UMR85 - CNRS 6175, F-37380 Nouzilly

## Introduction

L'œuf de poule est un modèle très particulier car c'est un milieu clos contenant tous les composés nécessaires au développement de l'embryon et à sa protection. Cette protection est essentielle à la fois pour le développement embryonnaire mais aussi pour la production d'œufs exempts de pathogènes.

## Résultats

*Isolation – caractérisation* : La Galline est une petite protéine de 41 résidus, contenant 3 ponts disulfure, identifiée à partir du blanc d'œuf. D'après sa structure primaire, elle possède un motif de cystéines proche de celui des  $\beta$ -défensines aviaires (AvBDs). Mais, compte tenu de la grande résistance de ce type de protéines aux protéases, la détermination des appariements des cystéines ne peut être réalisée par les techniques habituellement utilisées en spectrométrie de masse.

*Synthèse peptidique* : 11 mg de Galline pure ont été produits par synthèse peptidique. Le repliement oxydatif nous a permis d'obtenir la molécule dans sa conformation tridimensionnelle avec 3 ponts disulfure.

*Activités antimicrobiennes* : Les activités antimicrobiennes ont été déterminées sur une série de bactéries, selon la technique par diffusion radiale dite de Lehrer.

*Structure 3D* : La structure 3D a été déterminée par RMN à partir des expériences classiques de RMN <sup>1</sup>H sur un spectromètre VARIAN INOVA 600MHz. Le traitement et l'attribution des spectres ont été réalisés dans NMRdraw/NMRView et les modèles calculés dans ARIA/CNS, en utilisant l'option des ponts disulfure ambigus. La qualité de l'échantillon et des spectres RMN résultants nous a permis 1) d'obtenir rapidement un modèle 3D de la Galline : un feuillet  $\beta$  à 3 brins antiparallèles, caractéristique des  $\beta$ -défensines, auquel s'ajoute un 4<sup>ème</sup> brin dans la partie N-terminale; 2) de définir sans aucune ambiguïté le réseau de ponts disulfure, qui est celui des  $\beta$ -défensines.

## Conclusion

Notre étude RMN permet donc sans ambiguïté de classer la Galline dans la famille des  $\beta$ -défensines. D'une part, cette première structure 3D de  $\beta$ -défensines d'œuf est comparée aux structures 3D de  $\beta$ -défensines aviaires déjà déterminées : celle de la sphéniscine AvBD103b du manchot royal (Landon *et al.* *J Biol Chem* 2004, **279**, 30433-30439) et celle de la  $\beta$ -défensine aviaire 2 (AvBD2) du poulet (*Derache et al. en préparation*) pour définir les particularités structurales communes. D'autre part, elle est comparée aux 3 défensines homologues, de séquences connues, qui ont actuellement été identifiées dans les œufs d'autres oiseaux, pour définir s'il existe des caractéristiques spécifiques aux défensines d'œuf.