Soutenance

THESE

Vendredi 21 Novembre 2014 à 14h30

Salle des séminaires

Institut de biologie structurale - 71 avenue des Martyrs CS 10090 38044 Grenoble Cedex 9 - T.+33 (0)4 57 42 85 00

www.ibs.fr

par **Christine Hajjar**

Institut de Biologie Structurale

Groupe Membranes et Pathogènes

Étude fonctionnelle du coeur catalytique membranaire d'enzymes de la famille NOX: Identification de la première NADPH oxydase procaryote

Thèse de Doctorat de l'Université de Grenoble

La famille des NADPH OXydases est constituée de complexes multi protéiques, dont un des composants est la sous unité catalytique NOX. Il s'agit de protéine transmembranaire qui assure le transport des électrons à travers la membrane, à partir d'un donneur d'électrons, le NADPH, à un accepteur final, l'oxygène moléculaire. Il en résulte la production de superoxydes, précurseur d'espèces réactives de l'oxygène. Les NOX sont impliquées dans divers processus physiologiques et pathologiques qui les ont placés au rang des cibles thérapeutiques à forte valeur ajoutée.

Les NOX sont reportées comme des protéines membranaires propres aux eucaryotes supérieures. Ainsi toutes les données fonctionnelles disponibles pour cette famille d'enzyme, ont été le fruit d'études structure-fonction et de données putatives indirectes. Fort de ce constat, nous avons cherché à d'identifier chez les procaryotes des candidats homologues aux Nox eucaryotes et susceptibles d'être de bons modèles pour des études structurales. En se servant d'outils bio-informatiques, nous avons défini des signatures de séquences propres aux NOX et avons identifié, chez les procaryotes, des centaines de séquences homologues. La Nox de *Streptococcus Pneumoniae*, SpNox, a été sélectionnée et surexprimée chez *E. coli*. SpNox a été purifiée et a fait l'objet d'une caractérisation fonctionnelle et biochimique approfondie. A la vue de nos résultats, nous pouvons dire que SpNox se rapproche des NOX eucaryotes aussi bien par ses propriétés structurales que mécanistiques. Les premiers cristaux de SpNox ont été obtenus et son rôle in vivo reste à exploiter.

En parallèle à l'approche procaryote, nous avons mené une étude structure-fonction sur la protéine NOX2 humaine dans des neutrophiles PLB-985. Deux arginines conservées chez toutes les NOX eucaryotes ont été sélectionnées et leur rôle a été étudié par mutagenèse dirigée. Après évaluation des propriétés enzymatiques des mutants NOX2, nous avons pu identifier l'arginine 513 comme étant impliquée dans la spécificité de NOX2 vis à vis du NADPH. Ces résultats nous ont permis de proposer une nouvelle orientation du NADPH dans son site d'ancrage à la protéine NOX2.

Dans l'ensemble, ces études ont permis d'identifier, pour la première fois, des NOX chez les procaryotes et de proposer une nouvelle orientation de son substrat dans le site actif. Ces données serviront d'outils pour une meilleure caractérisation de cette famille de protéines, étape essentielle vers une meilleur compréhension des mécanismes moléculaires mis en jeu et pourquoi pas vers la conception de nouveaux médicaments à destination des NOX.

L'accès au campus EPN nécessite un avis de rendez-vous

Contactez Odile Kaikati - T. 04 57 42 87 04 - email : ibs.seminaires@ibs.fr