

**Sujet de stage de Master 2 (1 page max.)**

**Laboratoire :** Institut de biologie structurale (IBS)

**Directeur :** W Weissenhorn

**Intitulé de l'équipe :** Metalloprotein unit

**Responsable :** Y Nicolet

**Nom et Qualité du Responsable du Stage :** M Cherrier

**HDR ou non**

**Adresse :** 71 avenue des Martyrs 38044 Grenoble cedex 9

**Tél :** 04 57 42 87 58

**email :** mickael.cherrier@ibs.fr

**Parcours de Master 2 (*Rayer la/les mention(s) inutile(s)*) :**

Chemistry for Life Sciences (CLS)

Polymers for Advanced Technologies (PTA)

Organic Synthesis (SOIPA)

**Titre du sujet :** *Etude du mécanisme radicalaire de la methyl-ornithine synthase*

**Objectifs visés du stage (5 lignes max) :**

Le but du stage est de mieux comprendre le mécanisme radicalaire catalysé par l'enzyme PyIB impliquée dans la synthèse de la pyrrolysine : le 22<sup>ème</sup> acide aminé. Cette réaction complexe permet la coupure spécifique d'une liaison carbone-carbone. Ce travail se fera, d'une part, grâce à une étude structurale de la protéine par cristallographie aux rayons X, et d'autre part par une étude fonctionnelle, entre autre, par spectroscopie RPE et par analyse HPLC couplée à la spectroscopie de masse.

**Intérêts pédagogiques et compétences visées (5 lignes max) :**

Etude d'un mécanisme de chimie radicalaire dans le site actif d'une protéine. Analyse du rôle de la matrice protéique sur le contrôle de la réactivité. Apprentissage de la biologie structurale, de la biochimie et mise au point de protocoles réactionnels pour une étude spectroscopique impliquant le piégeage d'intermédiaires radicalaires à courte durée de vie.

**Résumé :**

La méthylornithine synthase est une protéine à radical S-adenosyl-L-méthionine capable de convertir la L-lysine en méthyl-D-ornithine, précurseur du vingt-deuxième acide aminé pyrrolysine. Elle utilise, pour cela un centre Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub> qui, par réduction à un électron, génère une espèce radicalaire hautement réactive 5'-deoxyadénosyl. Cette dernière va arracher un atome d'hydrogène de la lysine pour déclencher la réaction radicalaire de fragmentation-recombinaison. Cette réaction compliquée, qui nécessite l'usage de la chimie radicalaire de façon extrêmement contrôlée, est encore mal comprise. Le sujet du stage correspond donc à l'étude structurale et fonctionnelle de cette protéine afin de i) déterminer quel atome d'hydrogène est initialement arraché, ii) utiliser des analogues de lysine pour stabiliser l'intermédiaire radicalaire afin de suivre la réaction par résonance paramagnétique électronique, iii) obtenir une structure cristallographique de l'enzyme en complexe avec son substrat la L-lysine. Tout cela permettra de comprendre comment l'enzyme est capable de réaliser une réaction radicalaire de coupure d'une liaison carbone-carbone spécifique.

**Approches & matériels utilisés (5 lignes max) :**

Cristallographie aux rayons X (ESRF), techniques de biochimie classiques (expression, purification de protéines), Travail en anaérobie (Boîtes à gants et cristallisation automatique), Analyse fonctionnelle (HPLC-MS), Analyse structurale, spectroscopie RPE et RMN (collaboration)

**Domaines de compétences souhaitées du candidat (3 lignes max):**

Connaissances en chimie organique (réactivité), cinétique, analyse HPLC-MS, biochimie et biologie structurale (cristallographie) ou spectroscopie RPE

**Dates du stage :** 08/01/18 – 30/06/18