

par **Hamida Laroussi**

Institut de Biologie Structurale

Groupe Épigénétique et voies moléculaires

## **Caractérisation biochimique des protéines impliquées dans l'initiation de la recombinaison méiotique chez la souris**

**Thèse de Doctorat de la Communauté Université Grenoble Alpes**

Lors de la recombinaison méiotique, la formation des cassures double-brin d'ADN (DSB) nécessite le complexe catalytique Spo11 ainsi que plusieurs protéines promotrices, qui sont sept chez les mammifères : REC114, MEI4, IHO1, HORMAD1/2, MEI1, ANKRD31. Malgré leurs importances lors de la formation des DSB, la fonction exacte de ces facteurs protéiques n'est pas bien caractérisée. Mon travail s'est porté sur les protéines REC114, MEI4, et IHO1. Le but de mon projet de thèse est de réaliser une étude biophysique et structurale de ces facteurs protéiques afin de comprendre leurs organisations et de caractériser les détails moléculaires de leurs interactions.

Les constructions protéiques d'IHO1 et du sous-complexe REC114-MEI4 ont été caractérisées par plusieurs techniques (SEC-MALS, spectrométrie de masse et AUC) pour déterminer leurs états oligomériques. Les différentes analyses ont établi que la protéine IHO1 est tétramérique alors que le sous-complexe REC114-MEI4 est présent principalement sous forme hétérotrimérique en solution (2REC114/1MEI4). Durant cette thèse, l'interaction entre le sous-complexe REC114-MEI4 et la protéine IHO1 a été mise en évidence et son affinité a été mesurée. La caractérisation structurale du complexe REC114-MEI4 et de la protéine IHO1 seule ou en complexe a été initiée par plusieurs techniques combinant la cristallographie, RMN et Cryo-EM. Par ailleurs, la modélisation de la structure tridimensionnelle des protéines par AlphaFold2 nous a permis d'identifier les résidus impliqués dans l'interaction entre REC114-MEI4 et REC114-IHO1. Ceux-ci ont été mutés et analysés *in vitro*. Un projet de test *in vivo* de l'effet de ces mutations est en cours en collaboration avec l'équipe de Dr. Bernard De Massy (IGH Montpellier).