

TITRE (Français)	Développement et applications de méthodes RMN rapides pour l'étude de la structure et de la dynamique des protéines
TITRE (English)	Development and application of fast NMR methods for the study of protein structure and dynamics
AUTEUR	Paul Schanda
UNIVERSITE	UNIVERSITE JOSEPH FOURIER – GRENOBLE 1
DATE	9 octobre 2007
LABORATOIRE	Institut de Biologie Structurale
DIRECTION DE THESE	Bernhard Brutscher
PARRAINAGE	

Résumé en Français :

La RMN multidimensionnelle (RMN-nD) est la méthode de choix pour l'étude de la structure et de la dynamique des protéines en solution avec une résolution atomique. Une limitation de la RMN-nD est la longue durée de l'acquisition: le temps d'acquisition du jeu de données nécessaire pour une étude structurale est souvent de l'ordre de plusieurs semaines. De plus, des processus cinétiques, qui se passent à l'échelle de la seconde, ne sont pas accessibles aux études en temps réel par RMNnD en utilisant les méthodes standards. Ce travail présente des développements méthodologiques qui visent à accélérer la RMNnD en optimisant la relaxation longitudinale des protons amides. Les méthodes proposées permettent d'acquérir des spectres de corrélation 2D 1H-15N (3D 1H-15N-13C) en quelques secondes (quelques minutes). En plus, en combinaison avec des méthodes existantes (encodage spatial, encodage Hadamard), le temps d'acquisition pour des spectres 2D peut être réduit à une seconde. Des applications à l'étude de phénomène cinétiques des protéines sont montrées. Cette thèse présente aussi une nouvelle expérience RMN qui permet d'évaluer rapidement la qualité d'un échantillon de protéine, et une nouvelle méthode pour mesurer des couplages dipolaires résiduels entre protons amides avec une meilleure sensibilité que les méthodes existantes.

Résumé en anglais :

Multidimensional (nD) NMR is the method of choice for atom-resolved studies of protein structure and dynamics in solution. Among its current limitations are the long acquisition times required, translating to experimental times of several days or weeks for the set of experiments required for structural studies of proteins. Furthermore, real-time studies of kinetic processes occurring on a seconds time scale are inaccessible to standard nD NMR. This thesis is concerned with the development of fast nD NMR techniques based on longitudinal relaxation optimization. It is shown that 2D 1H-15N (3D 1H-15N-13C) correlation spectra can be obtained in only a few seconds (few minutes) of acquisition time for samples at millimolar concentration. In addition, the longitudinal relaxation optimized methods, when combined with alternative data sampling such as spatial or Hadamard encoding, can yield site resolved 2D 1H-15 correlation spectra in acquisition times down to one second. Applications of fast 2D methods to the study of protein folding and unfolding are shown. This thesis also presents a longitudinal relaxation optimized method for the sensitivity-enhanced measurement of residual dipolar couplings between amide protons, as well as a fast and simple experiment for the characterization of protein samples, which can be very useful in the context of screening of sample conditions.