

<b>TITRE (Français)</b>	<b>PROTONATION SPÉCIFIQUE DES MÉTHYLES : UN OUTIL POUR L'ÉTUDE STRUCTURALE DES ASSEMBLAGES MOLÉCULAIRES PAR RÉSONANCE MAGNÉTIQUE NUCLÉAIRE</b>
<b>TITRE (English)</b>	<b><i>SPECIFIC PROTONATION OF METHYLS: A TOOL FOR STRUCTURAL STUDY OF MOLECULAR ASSEMBLIES BY NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE.</i></b>
<b>AUTEUR</b>	Rémy SOUNIER
<b>UNIVERSITE</b>	UNIVERSITE JOSEPH FOURIER - GRENOBLE 1
<b>DATE</b>	12 Février 2008
<b>LABORATOIRE</b>	Institut de Biologie Structurale
<b>DIRECTION DE THESE</b>	Jean-Pierre Simorre et Jérôme Boisbouvier
<b>PARRAINAGE</b>	

#### Résumé en Français :

Les méthodes RMN standard appliquées à l'analyse structurale des protéines sont basées sur la mesure d'informations géométriques locales entre protons. Le manque de contraintes à longue portée est un facteur limitant pour l'étude des protéines modulaires, des complexes protéiques et des assemblages supramoléculaires. La deutération des échantillons est nécessaire pour l'étude de ces systèmes de grande taille. Néanmoins, le remplacement des protons par du deutérium limite le nombre de contraintes structurales détectables, en particulier des contraintes de distances de types NOEs. Pour résoudre ce problème, une stratégie basée sur la protonation de quelques sites discrets a été mise en place. La protonation spécifique des méthyles dans des protéines constitue un choix optimal pour l'obtention de contraintes à longue portée. Les protocoles de marquage spécifique des méthyles des Isoleucines, des Valines et des Leucines ont été implémentés et optimisés, et une nouvelle méthode de protonation spécifique des Alanines a été développée. Dans des systèmes de taille modérée, l'utilisation de ce type de marquage combiné aux développements d'expériences RMN adaptées permet la détection de contraintes (NOEs et RDCs) entre paire de méthyles séparés par plus de 12 Å. Une méthode robuste a été développée pour extraire des distances avec une très haute précision. Cette approche s'applique également à des protéines de grande taille, ainsi des NOEs entre méthyles distants par plus de 7 Å sont détecté dans un assemblage supramoléculaire de 468 kDa.

#### Résumé en anglais :

*Standard NMR methods applied to the structural analysis of proteins are based on the measurement of local geometric information between protons. The lack of long range restraints can be limiting factor for the study of the modular proteins, protein complexes and supramolecular assemblies. Perdeuteration of samples is necessary for the study of these large systems. However, the exchange of protons with deuterium limit the number of detectable structural restraints, particularly NOEs distance restraints. To resolve this problem, a strategy based on the protonation of some discrete sites was developed. The specific protonation of methyls in proteins constitutes an optimum choice for detection of long range restraints. Protocols for specific labelling of methyls of Isoleucines, Valines and Leucines were implemented and optimized, and a new method for specific protonation of Alanines was introduced. In moderate size systems, the use of this specific labelling strategy combined with the development of NMR experiments allows the detection of restraints (NOEs and RDCs) between methyls separated by more than 12 Å. A robust method was developed to extract distances with very high precision. This approach can also be applied to large proteins. NOEs have been observed between methyls separated by more than 7 Å in a 468 kDa supramolecular assembly.*