

TITRE (Français)	SPECTROSCOPIE DE RMN DU SOLIDE POUR LA DETERMINATION DE STRUCTURES DE PROTEINES
TITRE (English)	SOLID-STATE NMR SPECTROSCOPY FOR PROTEIN STRUCTURE DETERMINATION
AUTEUR	Antoine LOQUET
UNIVERSITE	Université Lyon 1
DATE	20/10/2009
LABORATOIRE	Institut de Biologie et Chimie des Protéines - CNRS
DIRECTION DE THESE	Dr. Anja BOCKMANN
PARRAINAGE	

Résumé en Français :

La RMN du solide est une technique spectroscopique destinée à l'étude de protéines insolubles à une résolution atomique. L'étude structurale d'une grande partie des protéines, telles que les protéines membranaires ou les fibrilles, est ardue à cause du caractère insoluble et de la grande taille de ces protéines. Il est difficile de cristalliser ces protéines pour leur étude par rayons x, et leur taille et insolubilité empêchent souvent l'étude par RMN en solution. La RMN du solide n'est pas limitée par la taille ou l'absence d'ordre structurale à grande échelle, et constitue ainsi une excellente alternative pour la détermination de structures tridimensionnelles de protéines telles que les protéines membranaires ou fibrillaires.

Dans cette thèse nous présentons dans une première partie le développement d'expériences de RMN du solide et de protocoles de calculs pour la détermination de structures de protéines insolubles à haute résolution. Ces méthodes sont appliquées pour déterminer la structure de la protéine Crh, qui est à ce jour la plus grande protéine modèle dont la structure ait été déterminée par RMN du Solide.

Ces résultats apportent une méthodologie pour étudier par RMN du Solide la structure de protéines insolubles et ouvre la voie à l'étude structurale de plus grands systèmes tels que les poly-protéines ou complexes protéine-membrane. Nous présentons ainsi dans la deuxième partie les étapes initiales de l'étude de l'assemblage moléculaire du prion de levure Ure2p. Dans la troisième partie, nous entrons dans la caractérisation structurale de peptides membranaires à l'exemple d'un peptide transmembranaires du virus de l'Hépatite C (HCV) et d'une drogue antivirale.

Résumé en anglais :

Solid-state NMR is a spectroscopic method to study insoluble proteins at an atomic level. Structural studies of a large part of proteins, such as membrane proteins or fibrillar proteins, remain challenging due to the inherent insolubility and the large size of these proteins. Indeed, it is often extremely difficult to grow single crystals for X-ray diffraction studies from these proteins, and their size and insolubility make studies by solution NMR spectroscopy difficult. Solid-state NMR is not limited by size or by absence of long-range order, and is thus a promising alternative for the 3D structure determination of fibrils and membrane proteins at atomic resolution.

In the first part of this thesis, we present the development of solid-state NMR experiments and structure calculation protocols to determine high-resolution structures of insoluble proteins. These solid-state NMR methods are applied to determine the 3D structure of the Crh protein, which is up to now the largest model protein resolved by solid-state NMR methods.

Our results provide state-of-art methodology to study the structure of insoluble proteins by solid-state NMR and open the way to structural studies of larger insoluble system such as polyproteins and protein-membrane complexes. This is shown in the second part of this work for the polymer of the 40.5 kDa Ure2p prion protein in its fibrillar form, where we present the onset of a structural study by solid- state NMR methods. In the last part, we prepare the terrain for structural studies of membrane systems at the example of an HCV (Hepatitis C virus) membrane peptide and an antiviral drug.