

Soutenance de Thèse

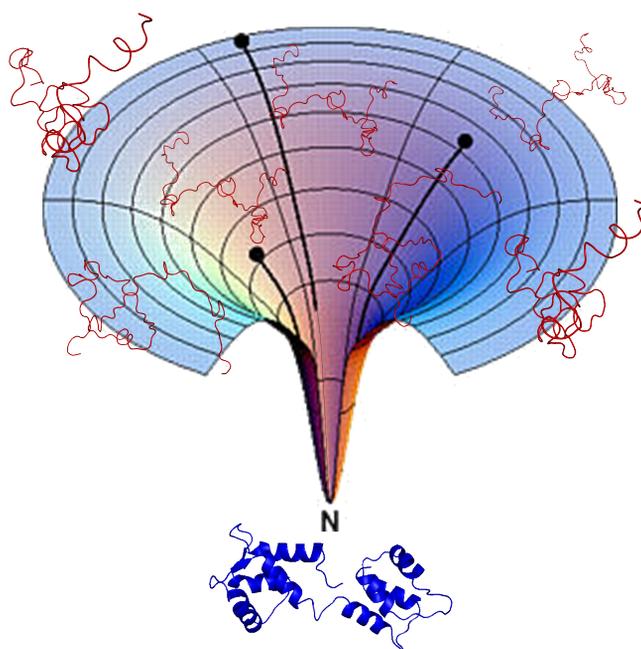
Gabriel Gibrat

Laboratoire Léon Brillouin (CEA/CNRS), Centre CEA Saclay, Bât 563,  
91191 Gif-sur-Yvette CEDEX

23 Octobre 2007 à 11 h

Amphi INSTN

**Structure et dynamique de l'état natif et des états dénaturés par la chaleur et la pression de la calmoduline. Une étude par diffusion de neutrons et spectroscopies optiques.**



**RESUME :**

Ce travail de thèse porte sur l'étude de la dénaturation thermique et sous pression de la calmoduline, une petite (16 kDa) calci-protéine soluble, monomérique, et « majoritairement  $\alpha$  », excellent système modèle pour les études de dépliement/repliement. Cette protéine existe sous deux formes, apo et holo, selon qu'elle a ou non fixé des ions calcium.

La comparaison des chemins de dépliement par la chaleur et par la pression montre sans ambiguïté que le dépliement des deux formes de calmoduline ne peut pas être correctement décrit par un simple modèle « à deux états » Natif  $\Leftrightarrow$  Déplié. Les stabilités issues des expériences sous pression et en température sont largement différentes, ce qui indique la présence d'états intermédiaires. Bien que le chemin de dénaturation thermique ne semble pas faire intervenir d'état intermédiaire de type « molten-globule », fréquemment rencontré en dénaturation de protéines, le chemin de dénaturation sous pression fait intervenir un état intermédiaire compact, dont le maximum de peuplement se situe autour de 3000 bar. Le comportement sous pression des deux formes de calmoduline est par ailleurs asymétrique : les domaines de la forme holo se contractent sous pression, ceux de la forme apo se dilatent. La conformation de l'état final de la dénaturation thermique de la forme apo s'apparente à celle d'une chaîne polymère Gaussienne, avec, toutefois, des structures secondaires résiduelles. Sa dynamique semble plus hétérogène que celle de l'état natif ; suggérant ainsi l'idée que la dynamique des atomes d'une protéine est dans une plus large part déterminée par leur distance au squelette peptidique que par leur exposition au solvant. Il est à noter que la dénaturation thermique de l'apo-calmoduline s'est avérée fortement irréversible.

Dans une dernière partie, ce travail de thèse présente l'étude de la dénaturation d'un système plus complexe, oligomérique, la C-phycoyanine, protéine photosynthétique des cyanobactéries. Cette protéine se dénature selon un mécanisme hors-équilibre à l'échelle de l'expérimentation classique, à plusieurs états, avec dissociation des oligomères dans un premier temps, et dépliement des monomères dissociés dans un deuxième temps.

**Vous êtes cordialement invités au pot qui suivra la soutenance**