



LA PROTEINE MC1 D'ARCHAEABACTERIE : RECONNAISSANCE DE SEQUENCES PARTICULIERES

Guillaume de Vuyst

► **To cite this version:**

Guillaume de Vuyst. LA PROTEINE MC1 D'ARCHAEABACTERIE : RECONNAISSANCE DE SEQUENCES PARTICULIERES. domain_other. Université d'Orléans, 2004. Français. tel-00009918

HAL Id: tel-00009918

<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00009918>

Submitted on 8 Aug 2005

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THESE
PRESENTEE
A L'UNIVERSITE D'ORLEANS
POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE D'ORLEANS

Discipline :

Aspects Moléculaires et Cellulaires de la Biologie

PAR

Guillaume DE VUYST

LA PROTEINE MC1
D'ARCHAEABACTERIE : RECONNAISSANCE
DE SEQUENCES PARTICULIERES.

Soutenue le : 1^{er} avril 2004

MEMBRES DU JURY :

- | | |
|--|----------------------------|
| - Pr. Francis DELMOTTE, LBLGC Université d'Orléans | Président |
| - Dr. Brigitte HARTMANN, CNRS/IBPC Paris V | Rapporteur |
| - Dr. Eric LE CAM, CNRS/IGR Villejuif | Rapporteur |
| - Dr. Françoise CULARD, CNRS/CBM d'Orléans | Directrice de thèse |

Guillaume DE VUYST

Mots clefs : interaction protéine/ADN, MC1, empreintes moléculaires, SELEX, courbure ADN

La protéine MC1 d'archaeobactérie : reconnaissance de séquences particulières.

La protéine MC1 est une petite protéine structurale très abondante chez *Methanosarcina thermophila* (archaeobactérie). Nous avons utilisé la méthode SELEX (Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment) pour rechercher ses séquences préférentielles de fixation. Après 10 cycles de sélection, une séquence consensus avec une affinité 50 fois plus forte que celle pour une séquence aléatoire a été déterminée. Cette séquence a été étudiée par simulation de dynamique moléculaire. Le mode de fixation de MC1 sur l'ADN a ensuite été déterminé par des empreintes moléculaires (DMS, OH^{*}). Les résultats montrent une fixation par une face et dans le petit sillon de l'ADN. Une reconnaissance par lecture indirecte des séquences est probable. L'oxydation de certains acides aminés (Trp, Met) par les rayons gamma entraîne une modification des propriétés de la protéine : perte de la reconnaissance de structures et séquences particulières et diminution de sa capacité à courber l'ADN.

Key words : Protein-DNA interaction; MC1; molecular footprinting; SELEX, DNA bending

The archaeal MC1 protein : recognition of special sequences

The structural MC1 protein is a small and very abundant protein in *Methanosarcina thermophila*. To identify DNA sequences that are recognised by this protein we have performed SELEX experiments (Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment) with a pool of DNA duplexes containing a central randomised N15 region. The alignment of DNAs after 10 rounds of selection reveals a 15 bp consensus sequence. The protein affinity for the consensus sequence is about 50 times higher than for the initial pool. The binding mode of the protein on DNA has been studied by molecular footprintings (DMS, hydroxyl radicals). The protein interacts via the minor groove at two distinct sites located on the same face of the DNA. The more likely is that the protein recognises the DNA sequences via an indirect readout process. The gamma radiation-induced oxidation of certain amino acids (Trp, Met) lead to the loss of recognition of particular sequences and of bent DNA is lost.