



## **Bases moléculaires et structurales du dysfonctionnement de la sélénoprotéine N dans diverses formes de dystrophies musculaires congénitales**

*Vanessa Dacleu*

Les Selenoprotéines sont des protéines contenant un résidu sélénocystéine (U) dans leur séquence en acide aminés. Vingt-cinq sélénoprotéines constituent le sélénoprotéome humain. Parmi elles, la sélénoprotéine N ou SelenoN ; des mutations dans le gène SELENON donnent lieu à un groupe de dystrophies musculaires congénitales appelées myopathies liées à SELENON. SelenoN est une protéine membranaire glycosylée de 72 kDa localisée dans le réticulum endoplasmique. Sa séquence en acide aminés contient le motif redox SCUG, similaire à celui des thioredoxines réductases. Elle contient de même un domaine EF-hand qui est un domaine de liaison au calcium. Des études ont récemment démontré l'implication de cette protéine dans l'établissement et la maintenance du muscle squelettique. D'autres études ont montré qu'elle joue un rôle dans la protection contre le stress oxydatif et l'homéostasie du calcium. Cependant, le mécanisme catalytique de SelenoN reste inconnu à ce jour. Le projet décrit dans cette thèse s'intéresse à la caractérisation, la cristallisation et la comparaison des SelenoNs d'une bactérie, *Candidatus poribacteriae*, et du poisson zèbre. Les études bio-informatiques ont démontré que SelenoN bactérienne et du poisson zèbre partagent 37% d'identité et un domaine commun correspondant à un repliement de type thioredoxine de fonction inconnue, contenant le motif redox. Les caractérisations biophysiques ont démontré que les deux protéines sont naturellement bien repliées et riche en hélices  $\alpha$ . La protéine bactérienne comportant en C-terminal de sa séquence en acide aminé un domaine thioredoxine additionnel, présente une forme étendue et est sous forme monomérique tandis que la protéine du poisson zèbre est un dimère compact. Des caractérisations biochimiques ont montré que le  $Ca^{2+}$  influence l'oligomérisation ou la conformation de SelenoN du poisson zèbre. Des cristaux initiaux de la protéine eucaryote sous sa forme déglycosylée ont pu être obtenus. La cristallisation de la protéine bactérienne a permis d'obtenir des cristaux appartenant à deux groupes d'espaces, avec des paramètres de cellule différents. Néanmoins, un modèle partiel à 2.3 Å couvrant le domaine C-terminal thioredoxine additionnel de SelenoN bactérienne a été obtenu. L'ensemble de ces résultats permettent de poser les bases de l'étude structure-fonction de SelenoN. L'expression, la purification et la cristallisation ont été optimisées et une stratégie pour résoudre la structure 3D de la protéine est proposée.

Mots clés : Selenoprotéine, SelenoN, Cristallisation aux rayons-X