

Soutenance

Soutenance de thèse

Mercredi 23 Mai 2012

Institut de Biologie Structurale J.P. Ebel

41, rue Jules Horowitz

F-38027 GRENOBLE Cedex 1

Tél. +33 (0)4 38 78 95 50 - Fax +33 (0)4 38 78 54 94

www.ibs.fr

A 14h - Salle des séminaires de l'IBS

Par Hiên Anh Nguyễn

Institut de Biologie Structurale J.P.Ebel

Groupe Membrane et Pathogènes

Découverte d'une nouvelle famille de protéines kinases bactériennes : Mécanisme de fonctionnement et rôle cellulaire de YdiB, un représentant chez *B. subtilis*

Thèse de Doctorat de l'Université Joseph Fourier

Les données de séquençage des génomes ont révélé la famille UPF0079 comprenant des protéines de fonction inconnue qui sont exclusivement présentes chez les bactéries; largement distribuées dans ce règne et possèdent le motif A de Walker dans leur séquence. La caractérisation biochimique et l'élucidation du rôle physiologique de cette famille contribueront à élargir nos connaissances en biologie fondamentale, et sont également un préalable vers le développement de nouveaux composés antimicrobiens. Notre étude sur YdiB, un archétype de cette famille chez *Bacillus subtilis* a révélé à la fois l'autophosphorylation de YdiB et son activité de protéine kinase. L'activité kinase de double spécificité Ser/ Thr et Tyr de YdiB semble nécessiter son oligomérisation et semble être stimulée par des molécules basiques telles que des polyamines naturelles ou la poly-L-lysine. Les 10 résidus les plus conservés chez cette famille ont été étudiés afin de mieux comprendre le mécanisme moléculaire de YdiB. Concernant la caractérisation fonctionnelle de la phosphorylation liée à YdiB, l'étude de l'opéron *ydiA-B-C-D-E* et *B. subtilis* nous a permis de montrer que YdiB et YdiC fonctionnent comme un couple de protéine kinase/phosphatase de deux protéines substrats dont les fonctions seraient liées aux ribosomes, YdiD et YdiE. Une co-localisation partielle entre YdiB et les ribosomes a été observée. En outre, YdiB est capable de phosphoryler des protéines ribosomiques appartenant aux deux sous-unités 50S et 30S, ainsi que deux GTPases liées aux ribosomes, EngA et EngB. Nous avons également démontré que EngA phosphorylée par YdiB est un substrat *in vitro* de la phosphatase YdiC. Enfin, basé sur le phosphoprotéome de *Bacillus subtilis*, des peptides mimant des sites de phosphorylation *in vivo* ont été utilisés. Certains d'entre eux ont été trouvés à être phosphorylés *in vitro* par YdiB. Deux de ces peptides appartient à la superoxyde dismutase SodA dont l'activité *in vitro* et après purification est régulée positivement via la phosphorylation par YdiB. Nous avons ensuite constaté que les cellules de *B. subtilis* dépourvues du gène *ydiB* sont plus sensibles aux agents oxydants tels que le paraquat ou la norfloxacine. Nous proposons que, *in vivo*, YdiB fonctionne comme une protéine kinase impliquée dans la fonction des ribosomes dans des conditions physiologiques normales, et son activité kinase contribuerait à protéger les cellules contre les dommages du stress oxydatif.