

**THÈSE PRÉSENTÉE A L'UNIVERSITÉ D'ORLÉANS  
POUR OBTENIR LE GRADE DE  
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ D'ORLÉANS**

**PAR  
Rémy LE MEUR**

**ÉCOLE DOCTORALE SANTE, SCIENCES BIOLOGIQUES ET CHIMIE DU VIVANT**  
*Discipline : Biologie Structurale et Fonctionnelle*

## **Étude structurale du mécanisme d'échange de chaînes des dimères de la protéine HU d'*E. coli***

Soutenue Publiquement  
le 23 janvier 2015 à 10 heures  
à l'auditorium Charles Sadron, campus CNRS Orléans

### **MEMBRES DU JURY :**

**Frédéric BOCCARD**  
**Franck BRIGNOLAS**  
**Bernhard BRUTSCHER**  
**Bertrand CASTAING**  
**Céline LANDON**  
**Karine LOTH**  
**Jacques OBERTO**  
**Nicolas WOLFF**

Directeur de Recherche, Centre de Génétique Moléculaire  
Professeur des universités, Université d'Orléans  
Directeur de Recherche, Institut de Biologie Structurale  
Directeur de Recherche, Centre de Biophysique Moléculaire - Codirecteur de thèse  
Chargée de Recherche, Centre de Biophysique Moléculaire - Codirectrice de thèse  
Maître de Conférences, Université d'Orléans  
Chargé de Recherche, Institut de Génétique et Microbiologie  
Directeur de Recherche, Institut Pasteur

### **RÉSUMÉ**

HU est une protéine bactérienne de type histone impliquée dans de nombreuses fonctions biologiques telles que la compaction, la transcription, la réplication et la réparation de l'ADN. Chez *E. coli*, il existe trois espèces dimériques de HU (HU $\alpha_2$ , HU $\beta_2$  et HU $\alpha\beta$ ) ayant des rôles biologiques distincts. La formation de l'hétérodimère repose sur un échange de chaînes peptidiques entre les homodimères. Un mécanisme modèle a été proposé par Ramstein et collaborateurs (*J.M.B.* **331**, 101-121 2003) et a servi de point de départ à ce travail. Dans ce modèle, les homodimères transitent d'une conformation native (N<sub>2</sub>) vers une conformation intermédiaire (I<sub>2</sub>). Les homodimères sous forme I<sub>2</sub> s'associent ensuite dans un hétérotétramère transitoire qui se redissocie en formant des hétérodimères. L'objectif principal de ce travail de thèse a été de caractériser chaque étape du mécanisme d'échange du point de vue structural et cinétique.

Parmi les principaux résultats de ce travail, deux structures originales, HU $\beta_2$  de *E. coli* et HU de *L. lactis*, ont été obtenues par diffraction des rayons X et complètent la caractérisation structurale des protéines HU sous leur forme N<sub>2</sub>. Un modèle de la conformation I<sub>2</sub>, partiellement désordonnée, a été élaboré à partir des résultats obtenus en RMN et en simulation de dynamique moléculaire. De plus, l'existence de la conformation tétramérique a été mise en évidence en faible concentration par spectrométrie de masse en conditions natives. Des protocoles de production/purification/oxydation ont été mis au point pour l'introduction de ponts disulfure afin de stabiliser la conformation tétramérique en vue de sa caractérisation structurale.

L'ensemble des données acquises par ces différentes approches affine la compréhension du mécanisme d'échange de chaînes d'un point de vue structural et cinétique et met en lumière le rôle clef de la conformation I<sub>2</sub> dans le contrôle de la composition des dimères de HU.