

**Discipline : BIOCHIMIE ET
BIOLOGIE STRUCTURALE**

NOM/PRENOM DU CANDIDAT : SMET-NOCCA CAROLINE N° d'ordre : 41147

JURY :

Garant de l'habilitation : Dr Guy Lippens

Rapporteurs : Pr Fred Van Leuven, Pr José Martins, Dr Françoise Jacob-Dubuisson

Membres : Dr Florence Pinet, Dr Marie-Laure Caillet-Boudin, Pr Tony Lefebvre

TITRE :

Régulation structurale et fonctionnelle de la protéine neuronale Tau par les modifications post-traductionnelles : implications physiopathologiques de la phosphorylation, l'acétylation et l'*O*- β -N-acétylglucosaminylation

RESUME :

La protéine neuronale Tau est une protéine associée aux microtubules impliquée dans la promotion de la polymérisation de la tubuline et la stabilisation de l'architecture microtubulaire. La protéine Tau a fait l'objet d'une attention particulière ces dernières décennies, pour son rôle crucial dans les processus de dégénérescence neuronale associés à différentes pathologies regroupées sous le terme de tauopathies, dont la plus connue est la maladie d'Alzheimer. La protéine Tau, intrinsèquement non structurée dans sa forme physiologique libre, dissociée des microtubules, apparaît, dans le contexte pathologique de la maladie d'Alzheimer, sous une forme fibrillaire insoluble et hyperphosphorylée. La phosphorylation régule la fonction physiologique de Tau, notamment son affinité pour les microtubules, et elle est étroitement liée à la formation des fibres pathologiques. Plus récemment, deux nouvelles modifications post-traductionnelles, l'acétylation et l'*O*- β -N-acétylglucosaminylation (*O*-GlcNAcylation), ont été décrites dans la régulation de la fonction physiopathologique de Tau. Ces deux modifications post-traductionnelles semblent avoir des fonctions antagonistes sur l'agrégation de la protéine Tau. L'acétylation stimulerait la formation des fibres en favorisant notamment l'accumulation de formes phosphorylées. En revanche, l'*O*-GlcNAcylation aurait un double effet protecteur sur l'agrégation. Dans des modèles cellulaires et animaux, une augmentation du niveau d'*O*-GlcNAcylation diminue la phosphorylation de Tau sur des sites spécifiques. *In vitro*, l'*O*-GlcNAcylation aurait un effet protecteur intrinsèque de l'agrégation, indépendant de la phosphorylation.

Nous avons utilisé la spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) à haute résolution comme technique unique pour l'identification et la caractérisation analytique de modifications post-traductionnelles, ainsi que l'évaluation de leur impact sur la structure et la fonction de Tau. Dans des modèles peptidiques, nous avons identifié des sites de phosphorylation dans des motifs phospho-Ser/Thr-Pro permettant une interaction fonctionnelle avec la peptidyl-prolyl *cis/trans* isomérase Pin1, dont le rôle dans la maladie d'Alzheimer reste à éclaircir. Notre approche par RMN a permis d'obtenir des détails au niveau moléculaire sur le mode de fonctionnement de Pin1 vis-à-vis de ses substrats phosphorylés. Nous avons également identifié de nouveaux sites d'*O*-GlcNAcylation dans un criblage de peptides et montré une régulation réciproque entre phosphorylation et *O*-GlcNAcylation au niveau de l'épitope PHF-1 (S396/S400/S404). En particulier, l'*O*-GlcNAcylation en Ser400 empêche la formation de ce phospho-épitope pathologique par la kinase GSK3 β .

Nous proposons d'identifier, dans le contexte de la protéine entière, l'impact de phosphorylations ou d'*O*-GlcNAcylation spécifiques sur la structure et la fonction physiopathologique de Tau, dans des protéines semi-synthétiques obtenues par ligature chimique native. Parallèlement, nous allons caractériser par RMN les sites d'*O*-GlcNAcylation et d'acétylation de Tau, obtenus via les activités enzymatiques de l'*O*-GlcNAc transférase (OGT) et de l'acétyltransférase CBP recombinantes, respectivement, ainsi que leur impact fonctionnel sur les profils de phosphorylation de différentes kinases, l'agrégation de Tau et la polymérisation de la tubuline *in vitro*.

Soutenance le 1 juillet 2013 à 14 Heures

**Amphithéâtre de l'Institut de Recherche Interdisciplinaire, Parc de la Haute Borne,
Villeneuve d'Ascq**