

## Avis de Soutenance

Monsieur El Hadji CISSE

Chimie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

*Synthèse de protéines par ligation chimique : étude méthodologique pour s'affranchir de la formation d'aspartimide & application aux peptides et protéines SUMOylés*

dirigés par Monsieur Vincent AUCAGNE

Ecole doctorale : Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant - SSBCV

Unité de recherche : CBM - Centre de Biophysique Moléculaire

Soutenance prévue le **mardi 07 mai 2024** à 9h30

Lieu : Délégation Centre Limousin Poitou Charente du CNRS, 3E avenue de la recherche scientifique, 45071  
ORLEANS

Salle : Amphithéâtre Charles Sadron

### Composition du jury proposé

M. Vincent AUCAGNE	CNRS	Directeur de thèse
Mme Fabienne BURLINA	CNRS	Rapporteuse
M. Didier BOTURYN	CNRS	Rapporteur
M. Grégory CHAUME	CY Cergy Paris Université	Examineur
Mme Marie-Aude HIEBEL	Université d'Orléans	Examinatrice
Mme Hélène BENEDETTI	CNRS	Examinatrice

**Mots-clés :** Aspartimide, Ligation chimique, Modification post-traductionnelle, Peptide, Protéine, Chémobiologie,

### Résumé :

La synthèse chimique de protéines, dont le succès est en grande partie dû au développement de la ligation chimique native (NCL), représente une alternative intéressante pour obtenir des cibles protéiques inaccessibles par voie recombinante, notamment pour les protéines munies de modifications post-traductionnelles (PTMs) spécifiques. La protéine SUMO (Small Ubiquitin-like MODifier) est impliquée dans une PTM consistant en la formation d'une liaison isopeptidique entre l'extrémité C-terminale de SUMO et la chaîne latérale d'une lysine de la protéine cible. Bien que cette PTM ait été mise en évidence dans divers processus cellulaires vitaux et que sa dérégulation est associée à des pathologies, son étude est relativement complexe en raison des défis liés à l'obtention de conjugués SUMOylés. L'objectif de ma thèse était de développer une méthodologie permettant d'obtenir des outils de chémobiologie conçus pour déchiffrer le rôle de la SUMOylation. Cette méthodologie repose sur la conjugaison d'une protéine synthétique SUMO-2 (93 acides aminés) équipée en C-ter d'un alcyne avec une protéine fonctionnalisée par un groupement azoture, via une réaction de cycloaddition azoture-alcyne catalysée par le cuivre(I) (CuAAC). Le triazole formé est un excellent mime de la liaison isopeptidique et résiste à l'hydrolyse par les protéases. Lors d'une première tentative de synthèse de SUMO-2, nous avons suspecté la formation d'aspartimide durant la NCL. L'aspartimide est un cycle à 5 chaînons pouvant avoir des impacts néfastes sur les propriétés des protéines. Il résulte de l'attaque nucléophile de l'azote d'une liaison peptidique sur la chaîne latérale d'un résidu Asp ou Asn adjacent. Son hydrolyse et/ou son épimérisation peuvent conduire à la formation de L/D-Asp et L/D-isoAsp. Malgré que cette réaction soit bien connue in vivo et en synthèse de peptides sur support solide (SPPS), elle a été rarement mentionnée dans le contexte de la NCL. Après avoir démontré que la formation d'aspartimide pendant la NCL est probablement courante, et représente donc un problème sous-estimé, nous avons décidé de développer une stratégie simple, efficace, et généralement applicable pour s'en affranchir. Celle-ci a été validée par la synthèse de SUMO-2 et d'un analogue équipé d'un alcyne C-terminal. À partir de ce dernier, un mime de peptide SUMOylé a été obtenu par le biais d'une réaction de CuAAC, et nous avons démontré la résistance à une SUMO protéase du lien triazole formé. Dans un second temps, la méthodologie a été étendue à la synthèse d'une protéine SUMOylée en explorant deux approches, l'une purement chimique, et l'autre associant la production par voie recombinante de protéines intégrant un acide aminé non-canonique équipé d'un azoture.