

École doctorale Médicament, Toxicologie, Chimie, Imagerie (MTCI, ED n°563)

SISATTANA Nathalie

Étude structurale de complexes Rieske-cytochrome *b*

Structural study of Rieske cytochrome *b* complexes

Date de soutenance : 25/09/2019

La date du dépôt 05/09/2019

Le résumé de la thèse en français:

Les chaînes de transfert d'électrons (CTE) participent aux processus bioénergétiques en générant des gradients électrochimiques utilisés par les cellules pour produire de l'énergie. La grande concentration des protéines des membranes des CTE implique une organisation pour optimiser leurs fonctionnements. Nous avons étudié la chaîne respiratoire de *Bacillus subtilis*, une bactérie firmicutes, et plus particulièrement une de ses branches comprenant un supercomplexe nommé $b_6c : caa_3$. Il est composé d'un complexe Rieske / cytochrome *b*, le b_6c ainsi que d'une cytochrome *c* oxydase caa_3 . Nous avons mis au point un protocole pour produire ce supercomplexe en quantité suffisante pour entamer son étude structurale. Nous avons développé un protocole de purification de cette superstructure, mais également d'une partie de cet assemblage : le b_6c . Ce complexe est intéressant d'un point de vue bioénergétique car il permet d'augmenter le transfert de proton par électron dans les CTE par un mécanisme nommé Q-cycle. À ce jour, aucune structure de complexe Rieske / cytochrome *b* de firmicutes n'a encore été déterminée. Ce travail constitue donc un point de départ important pour aboutir à la compréhension de son mécanisme à l'échelle moléculaire.

Parallèlement, nous avons résolu la structure du cytochrome b_6f , homologue du b_6c , de la chaîne photosynthétique de l'algue verte *Chlamydomonas reinhardtii* co-cristallisé en présence d'un inhibiteur, la stigmatelline, semblable à celui qui a déjà permis la publication d'une structure (la tridécylstigmatelline). Cela nous a permis de mieux appréhender les questions autour du site Q_o de ces complexes Rieske / cytochrome *b*.

Mots clés : Rieske / cytochrome *b*, Q-cycle, supercomplexe, chaîne respiratoire.

The electron transfer chains (CTE) take part in bioenergetic processes by generating electrochemical gradients that can be used by cell to produce energy. High protein concentration of CTE complexes in the membranes implies their organization to optimize their functioning. Here, we studied the respiratory chain of *Bacillus subtilis*, a firmicute bacterium, and more particularly one of the branches of the chain comprising a $b_6c : caa_3$ supercomplex. $b_6c : caa_3$ is composed of a Rieske / cytochrome *b*, b_6c as well as a cytochrome *c* oxidase caa_3 complexes. We have developed a protocol to produce and purify this supercomplex as well as its assembly part: the b_6c in quantities and quality sufficient to initiate their structural studies. This b_6c complex is particularly interesting from a bioenergetic point of view because it can increase proton transfer rate of CTE by a Q-cycle mechanism. To date, no structure of Rieske / cytochrome *b* complex of a firmicutes has been determined. This work is therefore an important starting point for understanding its mechanism at a molecular scale.

We also solved the structure of the cytochrome b_6f , an homologue of b_6c , from the photosynthetic chain of the green algae *Chlamydomonas reinhardtii* co-crystallized in the presence of an inhibitor, the stigmatellin, similar to the previous inhibitor that has already allowed the publication of a structure (Tridecylstigmatellin). This allowed us to better understand the issues concerning the Q_o site of these Rieske / cytochrome *b* complexes.

Mots clés : Rieske / cytochrome *b*, Q-cycle, supercomplex, respiratory chain.