

# **Développement d'une nouvelle stratégie analytique multiplexe pour la caractérisation moléculaire des états d'oxydation à l'échelle protéomique**

Par Shakir SHAKIR

*Résumé* : Le but de ce projet doctoral est le développement d'outils analytiques originaux nécessaires pour l'étude moléculaire de la régulation redox de la sécrétion des protéines à l'échelle du protéome. La mise au point de l'analyse de ce système redox et de certaines protéines modèles de repliement oxydatif par protéomique redox ciblée est le coeur de ce projet. La première stratégie OcSILAC envisagée consiste en une étape de découverte/caractérisation des modifications dans le profil d'oxydation des résidus cystéines (Cys) des protéines du réticulum endoplasmique (RE). Cependant, il est indispensable de quantifier les niveaux d'oxydation des résidus Cys. L'approche « shotgun », si elle permet une vue globale du protéome, a en fait une gamme dynamique très limitée. Afin de pallier à cette limitation, les échantillons générés par l'approche OcSILAC peuvent être analysés en mode Selected Reaction Monitoring (SRM). Le modèle de validation proposé est l'étude fonctionnelle de la régulation moléculaire redox du protéome en fonction de la présence de glutathion sur un modèle levure développé au CEA. En particulier, l'oxydation des résidus cystéines dans le RE est une modification post-traductionnelle nécessaire au repliement oxydatif d'une classe importante des protéines sécrétées, et donc à leur stabilité et à leur fonction. Elle fait intervenir un relai redox incluant l'oxydase des thiols Ero1 et la protéine disulfure isomérase PDI.