

SUJET DE THESE ED 614 & 615 2021

Sujet de thèse

Informations sur l'équipe	
Nom & Prénom du porteur du sujet	Hantz Sébastien
Nom de l'équipe	UMR 1092. Anti-infectieux : Supports moléculaires des résistances et innovations thérapeutiques, Université de Limoges
Adresse de messagerie du porteur du sujet	sebastien.hantz@unilim.fr
Téléphone	05 55 05 86 42
Adresse	CBRS, rue Pr Descottes, 87000 Limoges
Informations sur le sujet	
Titre du sujet	Etude des protéines du complexe d'encapsidation du cytomégalovirus humain en vue du développement de nouvelles stratégies thérapeutiques anti-CMVH.
Mots clés	cytomégalovirus, antiviraux, complexe terminase
Présentation détaillée du projet doctoral (1 page maximum)	<p>Le cytomégalovirus humain est une importante cause d'anomalies congénitales, impliqué dans 1/3 des surdités profondes bilatérales. Il est aussi responsable de morbidité et de perte du greffon en transplantation et un pathogène majeur en cas d'immunodépression. Les antiviraux actuels, tous inhibiteurs de la polymérase virale, entraînent des résistances croisées, et sont contre-indiqués pendant la grossesse du fait de leur toxicité et leur possible tératogénicité. Un nouvel antiviral (létermovir) récemment validé dans des essais cliniques de phase 3 en prophylaxie chez des greffés de cellules souches hématopoïétiques va obtenir son autorisation de mise sur le marché en 2019. Le létermovir agit en bloquant l'encapsidation du génome viral mais son mécanisme d'action n'est pas élucidé à ce jour, démontrant ainsi l'intérêt de mieux comprendre cette étape de la réplication virale afin de développer également d'autres inhibiteurs spécifiques.</p> <p>L'encapsidation du génome viral est réalisée par le complexe terminase constitué de plusieurs protéines virales (UL56, UL89, UL51, UL52, UL77, UL93 et UL104). Les protéines UL56 et UL89 assurent le clivage d'une unité de génome tandis que la protéine UL104 permet l'entrée du génome dans la capsidéoformée. Le rôle des autres protéines est encore très mal défini et aucune des protéines de ce complexe n'a pu être cristallisée à ce jour. Nos travaux se sont focalisés sur les relations structure-fonction des protéines UL56 et UL89. Nous avons identifié <i>in silico</i> dans pUL56 un domaine LAGLIDADG potentiel (₁₃₄LATLNDIERFL₁₄₄) suggérant que pUL56 appartiendrait à la famille des LAGLIDADG homing endonucléases. A l'aide de la technologie des chromosomes bactériens artificiels (BAC) permettant de construire des virus recombinants, nous avons muté différents acides aminés au sein de ce domaine, pouvant être impliqués dans la fonction de cette protéine et dans le mécanisme d'action du létermovir. De plus, nous avons mis en évidence à l'aide de la technologie ALPHA (<i>Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay</i>) un domaine d'interaction de la protéine pUL56 avec pUL89 pour lequel un brevet a été déposé.</p> <p>Parmi les autres protéines impliquées dans l'encapsidation de l'ADN viral, nous avons également étudié la protéine pUL52 au sein de laquelle nous avons défini des domaines conservés et</p>

SUJET DE THESE ED 614 & 615 2021

	validé les acides aminés essentiels de ces domaines impliqués dans de potentielles structures en doigt de zinc.
<p style="text-align: center;">Objectif et contexte (300 mots max)</p>	<p>L'objectif de ce travail de thèse est de poursuivre l'étude du mécanisme d'action du complexe terminase. Une partie du travail consistera à analyser in vitro l'activité fonctionnelle endonucléase du domaine ¹³⁴LATLNDIERFL₁₄₄ dont nous avons déjà caractérisé les acides aminés essentiels. Il faudra également étudier l'impact des mutations introduites dans pUL56 sur l'interaction avec les autres sous-unités du complexe terminase grâce à la technologie ALPHA après clonage et production des différentes protéines recombinantes. Différents systèmes de production pourront être envisagés (cellules eucaryotes ou baculovirus).</p> <p>A partir des domaines fonctionnels que nous avons identifiés et ceux qui seront mis en évidence au cours de la thèse, nous ferons synthétiser des peptides homologues à ces domaines pour agir comme des leurres moléculaires afin d'entraver la réplication virale en bloquant les interactions entre les partenaires du complexe. L'évaluation du potentiel antiviral et de l'innocuité de ces peptides sera analysée en culture cellulaire et sur modèle ex vivo et in vivo. En parallèle, il est envisagé de regarder l'impact du létermovir sur l'interaction entre les protéines sauvages afin de mieux comprendre son mode de fonctionnement.</p>
<p style="text-align: center;">Résultats attendus (300 mots max)</p>	<p>La première partie de ce travail consistera à mieux comprendre le fonctionnement du complexe terminase du cytomégalo virus humain par la mise en évidence des différents domaines essentiels aux interactions entre les différentes protéines du complexe et la détermination de leurs activités fonctionnelles. L'ensemble de ces travaux devra conduire au développement de nouvelles molécules ou de nouvelles stratégies thérapeutiques antivirales innovantes.</p>
<p style="text-align: center;">Références bibliographiques (10 max)</p>	<p>Ligat G, Cazal R, Hantz S, Alain S. The human cytomegalovirus terminase complex as an antiviral target: a close-up view. FEMS Microbiol Rev. 2018 Mar 1;42(2):137-145.</p> <p>Ligat G, Da Re S, Alain S, Hantz S. Identification of Amino Acids Essential for Viral Replication in the HCMV Helicase-Primase Complex. Front Microbiol. 2018 Oct 23;9:2483.</p> <p>Hantz S, Alain S. Infections à cytomégalo virus [Cytomegalovirus infections]. Rev Prat. 2019 Mar;69(3):301-306.</p> <p>Ligat G, Couvreur A, Cazal R, Alain S, Hantz S. Highlighting of a LAGLIDADG and a Zing Finger Motifs Located in the pUL56 Sequence Crucial for HCMV Replication. Viruses. 2019 Nov 26;11(12):1093.</p> <p>Alain S, Feghoul L, Girault S, Lepiller Q, Frobert E, Michonneau D, Berceau A, Ducastelle-Lepretre S, Tilloy V, Guerin E, Le Goff J, Peytavin G, Hantz S. Letermovir breakthroughs during the French Named Patient Programme: interest of monitoring blood concentration in clinical practice. J Antimicrob Chemother. 2020 Aug 1;75(8):2253-2257.</p> <p>Muller C, Alain S, Baumert TF, Ligat G, Hantz S. HCMV and herpesviruses: structures, divergent mechanisms in capsid maturation and stabilization following genome packaging. Life 2021, 11, 150.</p>
<p style="text-align: center;">Financement doctoral</p>	<p style="text-align: center;"><i>Sous réserve de financement</i></p>

SUJET DE THESE ED 614 & 615 2021

Informations sur le candidat

Profil et compétences recherchées	Expérience souhaitée en bioinformatique / utilisation des logiciels d'alignement et de modélisation a minima (Pymol, Phyre ou Geneious) Biologie moléculaire : PCR, séquençage, Culture cellulaire, production de protéines, Western Blot
-----------------------------------	--