**Proposition de sujet de thèse**

**Campagne 2017 d’attribution des contrats doctoraux attribués à EDCSV**

**Directeur de thèse** (Supervisor), HDR rattaché à EDCSV:

 *WEISSENHORN, Winfried ; HDR 2003*

**Co-Directeur de thèse** (éventuel), titulaire HDR :

**Ou Co-encadrant** (si non HDR) :

 *BLACKLEDGE, Martin, IBS Grenoble*

*En cas de co-direction ou co-encadrement,* ***les taux d’encadrement seront de 50% chacun****.*

**Unité de Recherche**/Laboratory : IBS

 *Directeur du Laboratoire : WEISSENHORN, Winfried*

**Equipe de recherche**/Research team : EBEV

 *Directeur d’équipe : WEISSENHORN, Winfried*

**Titre du projet de thèse** (en français): Structure et dynamique d'ESCRT-III, une machinerie moléculaire pour la fission membranaire

**Titre du projet de thèse** (en anglais): Structure and dynamics of the membrane fission complex ESCRT-III

**Résumé** (en anglais): Précisez le contexte, les objectifs, les méthodes (500 mots maximum)

**Context:** Endosomal Sorting Complexes Required for Transport (ESCRT) are implicated in many conserved cellular processes requiring membrane remodeling such multivesicular body formation (MVB), budding of some enveloped viruses, cytokinesis, biogenesis of exosomes, plasma membrane wound repair, dendritic spine formation as well as nuclear envelope reformation. The ESCRT machinery consists of five different complexes, which are recruited sequentially to the membrane during MVB biogenesis: ESCRT-0, ESCRT-I, ESCRT-II, ESCRT-III and the ATPase VPS4 complex. Common to all ESCRT-dependent processes is the requirement of ESCRT-III, composed of 11 members in humans and VPS4. ESCRT-III proteins switch between inactive helical monomers in the cytosol and activated molecules, which polymerize on membranes. Polymerization is achieved by opening the closed monomer conformation, rearranging helical segments that align and are stabilized by domain swapping. This generates extensive basic surfaces that can stabilize positively curved membranes in case of CHMP1B and negative membrane curvature in case of CHMP4, CHMP3 and CHMP2A. Work on HIV-1 budding showed that CHMP4 and CHMP2A-CHMP3 filament assembly is required to efficiently catalyze the final step in budding, membrane fission. Our current working model is that the fast assembly of ESCRT-III polymers within membrane neck structures induces membrane constriction and in conjunction with the ATPase activity of VPS4, membrane fission.

**Objectives:** The proposed work aims at (i) elucidating the kinetics of ESCRT-III activation, assembly and disassembly by NMR and/or fluorescent methods (ii) high resolution structural studies on ESCRT-III CHMP2A-CHMP3 polymers by X-ray crystallography or cryo electron microscopy. Together the NMR work, high resolution structures of the CHMP2A-CHMP3 polymer and the determination of kinetic parameters of assembly and disassembly will provide important new insight into ESCRT-III function.

**Methods:** The lab has set up all biochemical assays to assemble CHMP2A-CHMP3 filaments *in vitro* and disassemble them by VPS4. The candidate will be trained in the Weissenhorn lab regarding all biochemical and structural aspects of ESCRT-III including X-ray crystallography and protein labeling techniques. Electron microscopy work, if required, will be performed in collaboration with the Schoehn group at IBS. The NMR part will be carried out in the Blackledge lab that has developed methods to study intrinsically disordered proteins and their role in molecular interactions and assembly of large polymers.

**Mots-clés** (5 maximum) : en anglais et en français

ESCRT-III, budding, dynamics, NMR, crystallography

ESCRT-III, bourgeonnement, dynamique, RMN, cristallographie

**Sujet éligible à une allocation de la Fondation pour la recherche médicale (FRM) :**

Oui **□** Non **x**

**Profil du candidat souhaité :**

Master 2 en biologie structurale ; formation en biochimie des protéines : expression et purification des protéines, marquage des protéines ; formation en cristallographie ou/et RMN. Méthodes structurales et computationnelles.

**Trois publications récentes du Directeur de thèse** (et du co-directeur, s’il y a lieu) :

C. Caillat, P. Macheboeuf, Y. Wu, A.A. McCarthy, E. Boeri-Erba, G. Effantin, H.G. Gottlinger, W.

Weissenhorn and P. Renesto (2015) Asymmetric ring structure of Vps4 required for ESCRT-III disassembly. Nat Commun 6:8781.

G. Effantin, A. Dordor, V. Sandrin, N. Martinelli, W.I. Sundquist, G. Schoehn and W. Weissenhorn (2013) ESCRT-III CHMP2A and CHMP3 form variable helical polymers in vitro and act synergistically during HIV-1 budding. Cell Microbiol., 15(2), 213-26.

S. Lata, G. Schoehn, A. Jain, R. Pires, J. Piehler , H.G. Gottlinger and W. Weissenhorn (2008) Helical structures of ESCRT-III are disassembled by VPS4. Science 321, 1354-1357.

**Docteurs encadrés par le Directeur de thèse** (et du co-directeur s’il y a lieu) **ayant soutenu leur thèse** (dans les 5 dernières années). Indiquer la date de soutenance, la durée de la thèse (en mois), les publications relatives au sujet de thèse et leur situation actuelle :

**Nick Aschman**, 48 mois

Financement: Fond National de la Recherche Luxembourg

**Publications :**
M.G. Bego, É. A. Côt, **N. Aschman**, J. Mercier, W. Weissenhorn and E. A. Cohen (2015) Human Immunodeficiency Virus Accessory Protein Vpu Inhibits the Antiviral Response of Plasmacytoid Dendritic Cells for Innate Immune Evasion. PLoS Pathogen, 11(7):e1005024.
W. Weissenhorn, N. Miguet, **N. Aschman**, P. Renesto, Y. Usami, and H.G. Göttlinger (2012) Structural basis for tetherin function. Curr HIV Res. 10(4), 298-306.
**N. Aschman**, W. Weissenhorn and P. Renesto (2012) La tétherine, dernière amarre du VIH/ Tetherin, last link to HIV. Virologie, 16, 32-42.

**Situation actuelle**: Professeur du lycée, Luxembourg

**Emilie Poudevigne**, 36 mois,

Financement : Bourse de l’Université Josef Fourier

**Publications** :
J. Solomons, C. Sabin, Y. Usami, **E. Poudevigne**, D. Lutje-Hulsik, P. Macheboeuf, H. Gottlinger and W. Weissenhorn (2010) Structural basis of ESCRT-III CHMP3 recruitment of AMSH. Structure, 19(8), 1149-59.
W. Weissenhorn**, E. Poudevigne**, G. Effantin and P. Bassereau (2013) How to get out: ssRNA enveloped viruses and membrane fission. Current Opin Virol. 3, 159-167.

A. Dordor, **E. Poudevigne**, H. Göttlinger and W. Weissenhorn (2011) Essential and supporting host cell factors for HIV-1 budding. Future Microbiol. 6 (10), 1159-1170.

**Situation actuelle**: Novartis, Strasbourg

**Aurelien Dordor , 36 mois**
Financement : DFG

Publications :
G. Effantin\*, **A. Dordor**\*, V. Sandrin, N. Martinelli, W.I. Sundquist, G. Schoehn and W. Weissenhorn (2013) ESCRT-III CHMP2A and CHMP3 form variable helical polymers in vitro and act synergistically during HIV-1 budding. Cell Microbiol., 15(2), 213-26. (\* contributed equally)
N. Martinelli,, B. Hartlieb, C. Sabin, **A. Dordor**, Y. Usami, H. Göttlinger and W. Weissenhorn (2012) CC2D1A is a regulator of ESCRT-III CHMP4B. J. Mol. Biol., 419(1-2), 75-88.
**A. Dordor**, E. Poudevigne, H. Göttlinger and W. Weissenhorn (2011) Essential and supporting host cell factors for HIV-1 budding. Future Microbiol. 6 (10), 1159-1170

**Situation actuelle**: Inconnue

**Thèses en cours encadrées par le Directeur de** **thèse** (et du co-directeur s’il y a lieu, dupliquer le tableau)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Nom, Prénom du doctorant | Date de début de thèse | Type de financement | Indiquer, le cas échéant, s’il s’agit d’une co-direction, d’une co-tutelle,… |
| MAYEUX, Géraldine | 10/2014 | UGA et ANRS |  |
| MIGUET, Nolwenn | Xx/2015 | UGA CDI |  |
|  |  |  |  |

**Nombre de chercheurs et enseignant-chercheurs titulaires d’une HDR dans l’équipe** : 1

**Nombre total de thèses en cours dans l’équipe : 2**

Géraldine Mayeux est en quatrième année de thèse finance par l’ANRS. Elle soutient sa thèse au plus tard en janvier 2018.

Nolwenn Miguet est technicien (CDI UGA) et passe 50% du temps pour travailler sur son sujet de thèse.