**Proposition de sujet de thèse**

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

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

MADERN Dominique, Institut de Biologie Structurale, HDR obtenue en 2008

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

GIRARD, Eric, Institut de Biologie Structurale, HDR obtenue en 2011

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

**Unité de Recherche**/Laboratory : IBS, Campus EPN CS 10090 ,71 avenue des Martyrs
38044 Grenoble Cedex 9

Weissenhorn Winfried

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

Franzetti Bruno

**Titre du projet de thèse** (en français):

**Evolution de l’allostérie dans une famille de déshydrogénase impliquée dans le métabolisme**

**Titre du projet de thèse** (en anglais):

**Evolution of allostery in a family of dehydrogenase involved in the metabolism**

**Résumé** (en anglais):

Allostery is one of the most effective mechanisms for regulating protein activity. This regulation is due to the binding of a ligand to one protein site which affects the catalytic site by long range distance effects. Numerous studies have been conducted to understand the fundamental basis of allosteric regulation. Nevertheless, some aspects of the allosteric modulation are still poorly understood. In particular, the genesis of the allosteric mechanisms remains unknown. The evolutionary structural and biochemical approach used during the thesis is based on ancestral protein resurrection. The project paves the way to the identification of the key events that have favored the emergence of functional regulatory mechanisms by allostery in a family of enzyme involved in metabolism.

Our approach is the only one that allows both a determination of the respective order of fixation of amino acid substitutions and for the first time a measurement of the magnitude of their dynamical effects in an evolutionary process. This will allow us to dissect not only the local effects of mutations but also to understand how their long-distance effects propagate to the catalytic site. The results obtained will provide major advances not only in fundamentals science but also in the design of therapeutic enzyme inhibitors.

It is proposed to reconstruct the genesis of allosteric regulation in a dehydrogenase model superfamily. The latter is divided into several enzymatic groups: Lactates dehydrogenases (LDH) which are largely allosteric, malate dehydrogenases (MalDH) which are not, and four other groups of dehydrogenases that remain to be characterized. The first step aims at establishing the most likely evolutionary scenario leading to the divergence of properties within the family. The second step is then to determine the ancestral sequences from the phylogeny obtained. The candidate will have to set up protocols for the purification and characterization of contemporary proteins whose functions are unknown. The same will be done on the various ancestral proteins whose genes have been synthesized and overexpressed. He will develop a series of tests to see if these enzymes are sensitive to allosteric regulation. In the second part of the thesis, the candidate will find conditions of crystallization, collect diffraction data and determine the structure of the most relevant ancestral enzymes and the uncharacterized modern enzymes. These structures will be the starting point of studies by numerical simulation which will allow to see how the local and global changes in energy act on the catalytic site. By linking the structural and dynamical data to the changes in activity patterns and analyzing our data in the light of the nature and number of amino acid substitutions the candidate will explain the birth of allostery in an important family of enzyme. The candidate will also be involved in the search for allosteric drug molecules by sampling the inhibitory properties of compounds from various libraries using contemporary and ancestral LDHs.

This research project is supported by the Agence Nationale de la Recherche.

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

Régulation allostérique, Evolution, Biochimie, Cristallographie

Allosteric regulation, Evolution, Biochemistry, Crystallography

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

Oui **□** Non **□**

**Profil du candidat souhaité :**

Le (la) candidat(e), titulaire d’un M2 (ou équivalent), doit faire preuve d’une solide formation aux méthodes de la biologie structurale. Un intérêt manifeste pour la cristallographie aux rayons X et pour la dynamique moléculaire sont demandés. Une précédente expérience de laboratoire appliquée à la biologie structurale sera un critère déterminant. Le (la) candidat(e), fournira un Curriculum Vitae, une lettre de motivation, et l’attestation (même provisoire) de diplôme de master 2 ou équivalent avec relevés complets des notes et classements obtenus en L3, M1 et M2. Un exemplaire du mémoire de M2 ou d’ingénieur, ou tout autre document ou réalisation permettant de caractériser et d’évaluer les compétences du candidat est également demandé.

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

Le directeur et le co-directeur ont l’habitude de travailler ensemble. \*Corresponding author

1) Thermal activation of 'allosteric-like' large-scale motions in a eukaryotic Lactate Dehydrogenase. Katava M, Maccarini M, Villain G, Paciaroni A, Sztucki M, Ivanova O, **Madern D\***, Sterpone F\*. Sci Rep. 2017 Jan 23;7:41092.

2) New insights into the mechanism of substrates trafficking in Glyoxylate/Hydroxypyruvate reductases. Lassalle L, Engilberge S, **Madern D**, Vauclare P, Franzetti B\*, **Girard E\*.** Sci Rep. 2016 Feb 11;6:20629.

3) An experimental point of view on hydration/solvation in halophilic proteins. Talon R, Coquelle N, **Madern D\***, **Girard E\*.** Front Microbiol. 2014 Feb 21;5:66.

**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 :

**Romain Talon** soutenue en Juin 2012 (36 mois) :

An experimental point of view on hydration/solvation in halophilic proteins. Talon R, Coquelle N, Madern D, Girard E. Front Microbiol. 2014 Feb 21;5:66. doi: 10.3389/fmicb.2014.00066.

Clicked europium dipicolinate complexes for protein X-ray structure determination. Talon R, Nauton L, Canet JL, Kahn R, Girard E, Gautier A. Chem Commun (Camb). 2012 Dec 18;48(97)

Gradual adaptive changes of a protein facing high salt concentrations. Coquelle N, Talon R, Juers DH, Girard E, Kahn R, Madern D. J Mol Biol. 2010 Dec 3;404(3):493-505. doi: 10.1016/j.jmb.2010.09.055.

**Louise Lassalle** soutenue en décembre 2014 (36 mois) :

New insights into the mechanism of substrates trafficking in Glyoxylate/Hydroxypyruvate reductases. Lassalle L, Engilberge S, Madern D, Vauclare P, Franzetti B, Girard E**.** Sci Rep. 2016 Feb 11;6:20629.

**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,… |
| Engilberge Sylvain | 2015 | Bourse CEA | Co-direction |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |

**Nombre de chercheurs et enseignant-chercheurs titulaires d’une HDR dans l’équipe** : **6**

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