**Proposition de sujet de thèse**

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

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

ZAPUN André (HDR 2006) andre.zapun@ibs.fr

Groupe Pneumocoque +33 (0)4 57 42 85 43

Institut de Biologie Structurale

71 Av. des Martyrs

38044 Grenoble, France

**Unité de Recherche**/Laboratory :

Institut de Biologie Structurale UMR5075

Dir. Winfried WEISSENHORN

**Equipe de recherche**/Research team :

Groupe Pneumocoque (Thierry VERNET)

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

Assemblage de la paroi du pneumocoque : mécanismes et inhibition

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

Bacterial cell wall assembly in the pneumococcus: mechanisms and inhibition

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

*Streptococcus pneumoniae* is a major human pathogen that kills over 1.6 million people per year. Pneumococcus causes otitis, pneumonia and meningitis by invading various organs and tissues.

The bacterial cell wall is constituted of a giant polymer of disaccharide chains cross-linked by peptide bridges termed the peptidoglycan. Several classes of antibiotics, including the most widely used beta-lactams, function by preventing proper peptidoglycan synthesis.

In the context of rising worldwide antibiotic resistance the project aims at characterizing (A) an enzyme involved in the synthesis of the peptidoglycan precursor in the cytoplasm, and (B) the enzymes involved in peptidoglycan assembly at the cell surface.

A) MurT/GatD is an essential amidotransferase that modifies the precursor of peptidoglycan (lipid II). It changes the second residue of the stem peptide of lipid II from gamma-D-Glu to iso-D-Gln. MurT/GatD is essential in pneumococcus and therefore a potential drug target. We have solved the crystal structure and collaborators will synthesize potential inhibitors.

Aim: we will characterize in detail the enzymatic mechanism of MurT/GatD by combining the kinetic in vitro study of site-directed point mutants and various substrates and inhibitors.

B) Lipid II is polymerized to form peptidoglycan at the bacterial cell surface by enzymes that are the target of beta-lactams. These enzymes are called penicillin-binding proteins (PBPs). How PBPs are regulated to build a cell wall with the appropriate shape and properties is a fundamental question?

Aim: we will reconstitute the assembly of peptidoglycan in vitro at the surface of liposomes using lipid II and recombinant PBPs. We will test in this system the function of other proteins thought to affect the activity of PBPs.

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

Streptococcus pneumoniae ; bacterial cell wall ; liposome ; peptidoglycan, beta-lactams

Streptococcus pneumoniae ; paroi bactérienne; liposome ; peptidoglycane, beta-lactamines

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

Oui☒Non **□**

**Profil du candidat souhaité :**

Le/la candidat(e) aura un intérêt marqué pour la microbiologie moléculaire et un goût pour la biochimie et les approches combinées in vitro.

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

Calvez, P., Breukink, E., Roper, D.I., Dib, M., Contreras-Martel, C. and **Zapun, A**. (**2017**) Substitutions in PBP2b from -lactam resistant Streptococcus pneumoniae have different effects on enzymatic activity and drug reactivity. J. Biol. Chem. In press.

Philippe, J., Gallet, B., Morlot, C., Denapaite, D., Hakenbeck, R., Chen, Y., Vernet, T. and **Zapun, A**. (**2015**) Mechanism of β-lactam action in *Streptococcus pneumoniae*: the piperacillin paradox.Antimicrob. Agents Chemother. *59*, 609-21.

**Zapun, A.**, Philippe, J., Abrahams, K., Signor, L., Roper, D.I., Breukink, E., and Vernet, T. (**2013**) *In vitro* reconstitution of peptidoglycan assembly from the Gram-positive pathogen *Streptococcus pneumoniae*. ACS Chem. Biol. *8*, 2688-96.

**Docteurs encadrés par le Directeur de thèse ayant soutenu leur thèse** (dans les 5 dernières années).

Jules Philippe, PhD thesis, Oct 2011-Sep 2014 (36 mois), soutenue le 29 Sep 2014. Actuellement en postdoc à l’Université Jacobs de Bremen, Allemagne.

Publications :

**Philippe, J**., Gallet, B., Morlot, C., Denapaite, D., Hakenbeck, R., Chen, Y., Vernet, T. and Zapun, A. (2015) Mechanism of β-lactam action in *Streptococcus pneumoniae*: the piperacillin paradox.Antimicrob. Agents Chemother. *59*, 609-21.

**Philippe, J**., Vernet, T., and Zapun, A. (2014) The elongation of ovococci. Microb Drug Resist. *20*, 215-21.

Zapun, A., **Philippe, J**., Abrahams, K., Signor, L., Roper, D.I., Breukink, E., and Vernet, T. (2013) *In vitro* reconstitution of peptidoglycan assembly from the Gram-positive pathogen *Streptococcus pneumoniae*. ACS Chem. Biol. *8*, 2688-96.

Noirclerc-Savoye, M., Lantez, V., Signor, L., **Philippe, J**., Vernet, T. and Zapun, A. (2013) Reconstitution of membrane protein complexes involved in pneumococcal septal cell wall assembly. PLoS One. *8*(9):e75522.

**Nombre de chercheurs et enseignant-chercheurs titulaires d’une HDR dans l’équipe** : 3

**Nombre total de thèses en cours dans l’équipe :** 2 (Julie Bonnet 2014-2017 EDCSV, Christopher Arthaud 2015-2018 Région).