**Proposition de sujet de thèse**

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

**Directeur de thèse** (Supervisor), titulaire HDR: ***Burmeister, Wim****,* *wim.burmeister@ibs.fr**,*

*Tél. 04 76 20 94 00*

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

**Co-encadrant** (éventuel) :***Tarbouriech, Nicolas***

**Unité de Recherche**/Laboratory : Institut de Biologie Structurale (IBS)

Directeur : *Weissenhorn, Winfried*

**Equipe de recherche**/Research team : **Viral Replication Machines**

Directeur d’équipe : *Burmeister, Wim*

**Titre du projet de thèse** (en français): Etude de différents états de la polymérase du virus de la vaccine et analyse de mutations de résistance aux antiviraux

**Titre du projet de thèse** (en anglais): Study of different states and antiviral resistance mutants of the vaccinia virus polymerase E9

**Résumé** (en anglais):

Before its eradication, smallpox has been the most infectious disease of humanity. With an almost non-existing vaccination coverage of the human population nowadays, there is a risk of an introduction of an orthopoxvirus into the human population from an animal reservoir as poxvirus circulate widely at the level of farm animals and wild rodents. In this context, we determined the structure of the poxvirus DNA polymerase E9 by X-ray crystallography, which is the base of the development of new antivirals and the understanding of resistance mutations. E9 will show, as other B family polymerases do, 4 different conformations:

* the complex with a DNA template and a complementary strand in elongation mode
* the complex in elongation mode with a bound nucleotide ready to be incorporated
* the complex with a template DNA and a complementary strand in edition mode
* the apo form of the polymerase without the presence of an oligonucleotide.

So far, we have solved only the structure of the apo form, but we want to characterize and crystallize several E9-DNA complexes representing the other states in order to study them by X-ray crystallography. This will be the principal aim of the thesis work. In preparation of the co-crystallization, E9-DNA interactions will be analyzed by SPR, fluorescence anisotropy and small-angle X-ray scattering. E9 will be produced in the baculovirus-insect cell system. We want furthermore to analyze the effect of several resistance mutations to antivirals structurally as well as we want to study their impact on the enzymatic activity of E9. As E9 is implied into a ternary complex together with the processivity factor A20-D4, the study the impact of the binding of A20 derived fragments produced in bacteria onto the structure of E9 may also be studied.

**Mots-clés** :

dsDNA virus, replication, DNA polymerase, antiviral, resistance

ADN double brin, réplication, ADN polymérase, antiviraux, résistance

**Profil du candidat souhaité :**

Un étudiant polyvalent et autonome intéressé par un travail interdisciplinaire entre la biologie structurale, la biologie moléculaire et la biochimie. Une expérience au niveau des techniques de biologie moléculaire de base (clonage, expression) et de la purification des macromolécules est souhaitable. Le laboratoire présente un environnement de travail multinational ; des bonnes connaissances en anglais sont souhaitables.

**Trois publications récentes du Directeur de thèse** :

Sèle, C., Gabel, F., Gutsche, I., Ivanov, I., Burmeister, W.P., Iseni, F. & Tarbouriech, N. Low-Resolution Structure of the Vaccinia Virus DNA Replication machinery. *J. Virol.* **87** : 1679-1689 (2012).

Burmeister, W.P., Tarbouriech, N., Fender, P., Contesto-Richefeu, C., Peyrefitte, C.N. & Iseni, F. Crystal structure of the vaccinia virus uracil DNA-glycosylase in complex with DNA.

J Biol. Chem. pii: jbc.M115.648352. (2015).

Hutin, S., Ling, W. L., Round, A., Effantin, G., Reich, S., Iseni, F., Tarbouriech, N., Schoehn, G. & Burmeister, W. P.

Domain organization of vaccinia virus helicase-primase D5.

*J. Virol*. **90**, 4604-13. doi: 10.1128/JVI.00044-16. (2016).

**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 :

**THIERRY, Eric**, financement Région, soutenu le 23.4.2013 après 43 mois

**Thierry, E**., Brennich M., Round, A., Buisson M., Burmeister, W. P. and Hutin, S. Production and characterization of Epstein-Barr virus helicase primase complex and its accessory protein BBLF2/3. Virus Genes. doi 10.1007/s11262-015-1233-6 (2015).

**Thierry, E**., Morand, P. & Burmeister, W. P.

Structure des enzymes de réplication du virus Epstein-Barr

*Virologie*, **16**, 185-198. (2012) (Review article).

en formation complémentaire informatique

**SELE, Céleste**, financement CNRS-DGA, co-direction 10 % avec N. Tarbouriech, soutenu le 13.12.2011 après 38.5 mois

**Sèle, C**., Gabel, F., Gutsche, I., Ivanov, I., Burmeister, W.P., Iseni, F. & Tarbouriech, N. Low-Resolution Structure of the Vaccinia Virus DNA Replication machinery. *J. Virol.* **87** : 1679-1689 (2012).

actuellement post-doctorant à Helsinki, Finlande

**Thèses en cours encadrées par le Directeur de** **thèse** (et du co-directeur s’il y a lieu) **: 0**

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

**Nombre total de thèses en cours dans l’équipe : 0**