

Thèse financée pour trois ans (employeur : CEA Saclay)

Profil recherché : Biochimiste/biologiste structural, actuellement en Master2. Des candidats déjà titulaires d'un Master pourront être considérés.

Contact : Stéphane Bressanelli

stephane.bressanelli@i2bc.paris-saclay.fr

<https://www.i2bc.paris-saclay.fr/spip.php?article1078&lang=fr>

La polyprotéine de réplication des norovirus humains : caractérisation structurale et propriétés de remodelage des membranes

résumé

Ce projet de recherche fondamentale s'inscrit dans deux des forces reconnues de DRF/JOLIOT/SB2SM que sont la biologie structurale et la biochimie des protéines membranaires. Méthodologiquement, il accompagnera le développement dans le service et plus largement sur Paris-Saclay de la cryo-microscopie électronique des complexes protéiques membranaires. Thématiquement, il a un très fort potentiel d'innovation thérapeutique dans le domaine du développement de nouvelles molécules antivirales.

Les virus à ARN simple brin de polarité positive (virus ARN(+)) comprennent de nombreux pathogènes humains (Coronavirus, hépatites C, A et E, dengue, Zika, Chikungunya...). Tous utilisent la même stratégie de réplication intracellulaire : pour assurer la synthèse de nouveaux ARN viraux, une grosse polyprotéine de réplication codée dans le génome du virus dirige la formation d'un compartiment membranaire isolé. Il s'avère que le processus de remodelage membranaire associé est une excellente cible pour des antiviraux. Ainsi, des molécules dirigées contre lui sont très efficaces comme médicaments contre le virus de l'hépatite C.

Les norovirus sont des virus ARN(+) qui causent la majorité des gastroentérites non bactériennes. La polyprotéine de réplication des norovirus (1700 résidus) contient la protéine NS4, qui est le facteur principal de remodelage membranaire chez les norovirus. Prolongeant notre collaboration avec le groupe de Volker Lohmann (Heidelberg), nous proposons de réaliser la caractérisation structurale de la polyprotéine des norovirus et particulièrement de NS4. Pour cela nous mettrons en oeuvre quatre tâches interconnectées :

- Grâce à un système de traduction *in vitro* que nous avons mis en place dans le service, nous produirons et purifierons la polyprotéine et ses produits de maturation dont NS4.
- Nous déterminerons les structures atomiques de ces protéines par cristallographie et pour les plus gros complexes par cryo-microscopie électronique.
- Nous caractériserons biophysiquement à plus basse résolution les interactions avec des membranes modèles par microscopie électronique (dont la méthode rare de cryofracture) et spectroscopies vibrationnelles.

- Nous utiliserons la modélisation moléculaire pour intégrer les données de basse et haute résolution.

Nos découvertes sur les structures de ces protéines éclaireront leurs fonctions dans la réplication des norovirus. Une retombée potentiellement très importante est qu'elles aideront nos collaborateurs à développer un système de culture cellulaire permettant de cribler des molécules contre les norovirus.

A funded three-year doctoral work at CEA Saclay

Contact : Stéphane Bressanelli
stephane.bressanelli@i2bc.paris-saclay.fr
<https://www.i2bc.paris-saclay.fr/spip.php?article1078&lang=en>

Profile: Biochemist/structural biologist, currently completing their Master's degree. Candidates having completed their degree may also be interviewed.

The replication polyprotein of human noroviruses: Structural characterization and membrane remodeling properties

summary

This basic research project stems from two of the major strengths of DRF/JOLIOT/SB2SM, namely structural biology and membrane protein biochemistry. The project has the makings of a flagship in the initiative for cryo-electron microscopy currently ongoing in the department and in the Paris-Saclay area at large. It also has a strong potential for downstream development of antivirals.

Positive-sense, single-stranded RNA viruses ((+)RNA viruses) comprise numerous human pathogens such as coronaviruses, hepatitis C, A and E viruses, dengue, Zika or Chikungunya viruses. All (+)RNA viruses use the same strategy to replicate inside their host cells: Their genome encodes a large replication polyprotein containing one or several membrane-remodeling domains that generate a segregated viral RNA synthesis compartment. Unexpectedly, the process of viral membrane remodeling has turned out to be a choice target for antivirals. This is best exemplified by current, very effective antivirals targeting the major membrane-remodeling hepatitis C virus protein.

Noroviruses are (+)RNA viruses that cause the majority of nonbacterial gastroenteritis worldwide. Human noroviruses encode a 1700-residue replication polyprotein from which is cleaved the main membrane-remodeling factor NS4. Building on our collaboration with the group of Volker Lohmann (Heidelberg), we propose a structural characterization of the human norovirus replication polyprotein with a focus on NS4. We will realize four interconnected tasks:

- Thanks in part to our inhouse cell-free expression system, we will produce and purify the functional replication polyprotein, its processed products, and NS4.
- We will use crystallography and cryo-electron microscopy for determining the atomic structures of the polyprotein, of its cleavage products and of NS4.
- We will characterize at lower resolution the biophysics of interactions with membranes, by electron microscopy (including the rare freeze-fracture preparation method) and vibrational spectroscopies.

- We will use molecular modeling to bridge the low and high resolution data.

Our structural results will bring functional insights in the replication of noroviruses. A potentially important impact lies in the help it will provide our collaborators in developing the efficient cell culture system that is much needed for developing drugs against human noroviruses.