



université PARIS-SACLAY

"CARACTÉRISATION STRUCTURALE ET FONCTIONNELLE DE LA POLYMÉRASE DU VIRUS RESPIRATOIRE SYNCYTIAL" PAR JULIEN SOURIMANT

Discipline: virologie, Laboratoire: EPIM - EA 3647 - Physiopathologie et diagnostic des infections microbiennes

Le mercredi 20 mai 2015 à 14h

INRA

Amphithéâtre du bâtiment 440

Allée de Vilvert

78352 Jouy-en-Josas

Résumé

Le virus respiratoire syncytial (VRS) est le principal agent responsable des bronchopneumonies du jeune veau et des bronchiolites du nourrisson. Il n'existe pas de vaccin ni d'antiviraux spécifiques pour l'homme. La réplication du génome et la transcription des gènes viraux sont assurées par un ensemble de protéines virales constituant le complexe ARN polymérase ARN-dépendant : la nucléoprotéine N, la phosphoprotéine P, le facteur de transcription M2-1 et la grosse sous-unité L. L'objectif principal de ma thèse était d'obtenir de nouvelles données structurales et fonctionnelles

sur le complexe ARN-polymérase ARN-dépendante (RdRp) du VRS, en particulier sur le couple P-L. Pour ceci j'ai tout d'abord développé un protocole de production et purification de la protéine L sous forme recombinante en cellules d'insecte. Ceci m'a permis ensuite de cartographier le site d'interaction de P avec L. J'ai ainsi mis en évidence que la protéine L interagit avec la partie C-terminale de la protéine P, au-niveau des résidus 216 à 239. Les données obtenues suggèrent que ce domaine peut former un nouvel élément de reconnaissance moléculaire (« MoRE ») se structurant en hélice alpha lors de l'interaction avec la protéine L. De plus, la cartographie de ce domaine d'interaction m'a permis d'identifier entre les résidus 164 et 205 de P une nouvelle région impliquée dans le recrutement de la protéine L aux corps d'inclusions viraux. Ces nouvelles données ouvrent la voie à de nouvelles études structurales de l'ARN-polymérase du VRS et nous permettent d'envisager de nouvelles stratégies antivirales ciblant ce complexe.

Mots clés : virus respiratoire syncytial, virologie moléculaire, interaction protéine-protéine, ARN polymérase ARN-dépendante, phosphoprotéine, purification de protéine.

Abstract

Respiratory syncytial virus (RSV) is the leading cause of calves bronchopneumonia and infants bronchiolitis. No vaccine nor antiviral treatments are currently available for use in humans. Viral genome is replicated and transcribed by a set of viral proteins constituting the viral RNA-dependant RNA polymerase (RdRp) complex : the nucleoprotein (N), the phosphoprotein (P), the transcription factor (M2-1) and the large subunit (L). This work aimed to unveil new structural and functional data regarding the viral RdRp, especially the P-L couple. With this aim in view, i've first conceived a protocol to produce and purify recombinant L and P proteins expressed in insect cells. This tool enabled the fine mapping and characterization of the L binding domain of the RSV phosphoprotein. This highlighted the interaction between the L protein and the C-terminal region of the P protein, especially residues 216 to 239. Further data suggests that this area constitutes an alpha-helix forming molecular recognition element (« MoRE ») during P-L interaction. Furthermore, this study unveiled a new region of the P protein encompassing residues 164 to 205, involved in the recruitment of L protein to viral inclusion bodies. These new results open the way to upcoming structural studies of RSV RdRp and allow us to define a new target for the development of antiviral drugs against RSV.

Keywords : respiratory syncytial virus, molecular virology, protein-protein interaction,

INFORMATIONS COMPLÉMENTAIRES

Monsieur Denis Gerlier, Directeur de Recherche, ENS Lyon – Rapporteur

Monsieur Etienne Decroly, Directeur de Recherche, AFMB UMR7257 CNRS, Marseille – Rapporteur

Madame Elyanne Gault, Professeur des Universités-Praticien Hospitalier, Université Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines – Directrice de thèse

Monsieur Jean-François Eléouët, Directeur de Recherche, INRA, Jouy-en-Josas – Co-Directeur de thèse

Madame Sonia Longhi, Directrice de recherche, Université d'Aix Marseille - Examineur

Monsieur Jean-Louis Gaillard, Professeur des Universités-Praticien Hospitalier, Université Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines, Examineur

Monsieur Thibaut Crépin, Chargé de Recherche, CNRS, Grenoble, Examineur

Contact :

DREDVal Service FED : theses@uvsq.fr