

<b>Profile N° (à remplir par VAS)</b> <b>SOLEIL synchrotron</b>	<b>FUNDING Planned</b> <b>ARED + Appel offre</b>
<b>Obtained</b>	
<b>Sheet abstract of thesis 2014</b> <b>BIOLOGY TRUCTURAL BIOLOGY</b>	<b>Disciplinary Fields HEALTH et FUNDAMENTAL</b>
Thesis Title : (1-2 lines) <b>Membrane – interfacial proteins ineractions : SAXS, SANS and molecular modelling analysis of dystrophin 3D structure in presence of lipid membranes</b>	
3 keywords : (1 line) <b>Structural biology / lipid protein interactions / dystrophin</b>	<b>ACRONYME</b> <b>KIGENN</b>
Unit/Team of supervising : (1-2 lines) <b>UMR CNRS 6290 structures et interactions moléculaires</b>	
Name of the scientific director and co-director : (1 line) <b>HUBERT Jean-François &amp; COMBET Sophie</b>	
Contact : (1 line) <b>jfhubert@univ-rennes1.fr</b>	
<b>Socio-economic and scientific context : (10 lines)</b> Dystrophin is an essential protein from the muscle cytoskeleton, encoded by the largest human gene. It provides resistance properties to mechanical stresses by interacting with other skeletal proteins and membrane lipids. Mutation in the gene lead to absence of dystrophin characterised by the severe disease Duchenne muscular dystrophy. Truncated forms of dystrophin resulting from other series of mutations are associated with the less severe Becker muscular dystrophy. A full knowledge of molecular structure of dystrophin alone and in interactions with its partners is required to understand basic function of muscle cells and for the design of genic therapy strategies. In the field of structural biology, new methodologies are needed to perform analysis of interfacial proteins such as dystrophin when interacting with membranes.	
<i>Assumptions and questions (8 lines)</i> Three dimensional structure of dystrophin is beeing solved in our laboratory by combining small angle X ray scattering data and new molecular modelling approaches. Following the structure determination of the protein alone, we will analyse it in the presence of its membranous partner. Some data pre-exist about this interaction and it is obvious that structural changes occur. To understand the biologic significance of these observations, a better knowledge of these changes of conformation is needed. To date, no successful methodology exists for that purpose. We therefore plan to develop between the two labs complementary small angle X ray (SAXS) and neutron (SANS) diffraction together with molecular modelling in order to understand structure to function links for the dystrophin.	
<i>The main steps of the thesis and demarche (10-12 lines)</i> Recombinant protein obtention as well as biomimetic membrane systems building is current in the lab. We will first focus the work on a fragment of dystrophin (R11-15 prot) which is well characterised. The first month of the thesis will be devoted to optimisation of the macromolecular complexes to get homogenous biological objects (liposomes and nanodiscs) with deuteration levels in adequation with SANS technical specific requirements. SAXS and SANS data will be then generated on dystrophin in the presence of various conditions of interactions with phospholids. Analysis of experimental spectrum will give spatial information on these objects. High resolution models will then be built by molecular simulation home-developped methods and other biophysical approaches. The topology of the protein will be obtained in different conditions. Thin interactions will be characterised : connecting residues, specific lipids, protein transconformations. The methods developped for this R11-15 protein will tehnn be applicated to the whole part of the central domain of dystrophin. An exhaustive view of the interaction will be obtained. In a last part of the work, the influence of mechnaical constraints on the system that will mimick cellular events will be analysed.	
<i>Methodological and technical approaches considered (4-6 lines)</i> <b>Protein purification and lipid biochemistry. Biophysical analysis (spectrofluorescence, criscular dichroism...).</b> <b>Small angle X ray diffraction and neutron diffraction.</b> <b>Molecular modelling by homology and molecular dynamics</b>	
<b>Scientific and technical skills required by the candidate (2 lines)</b> <b>Master degree in biochemistry –biophysics</b> <b>Skills in molecular modelling are welcome</b>	

Profil N° (à remplir par VAS)  
cours

FINANCEMENT Demandé cofinancement SOLEIL-LLB & ARED (demandes en

Acquis

Fiche Résumé du sujet de thèse 2014 Champs disciplinaire Santé et Biologie fondamentale

Titre de la thèse : (1-2 lignes) Interactions protéines interfaciales/membranes : analyses par SAXS, SANS et modélisation moléculaire de la structure tridimensionnelle de la dystrophine en présence de lipides membranaires.

3 mots-clés : (1 ligne)

**biologie structurale / interactions lipides protéines/dystrophine**

Unité/équipe encadrante : (1-2 lignes)

**UMR 6290 (Institut de Génétique et Développement de Rennes) – Equipe : Structure et Interactions moléculaires (SIM)**

Nom du responsable scientifique et codirecteur : (1 ligne)

**Jean-François HUBERT (UMR 6290 Université Rennes 1) – Sophie COMBET (CEA)**

Contact : (1 ligne)

[ifhubert@univ-rennes1.fr](mailto:ifhubert@univ-rennes1.fr) ; [sophie.combet@cea.fr](mailto:sophie.combet@cea.fr)

**Contexte socioéconomique et scientifique : (10 lignes)** La dystrophine est une protéine essentielle du muscle squelettique, codée par le plus grand gène humain (*DMD*). Elle confère au muscle des propriétés de résistance aux stress de la contraction grâce aux interactions qu'elle réalise avec des protéines du cytosquelette et les lipides membranaires. Sa fonction est indispensable à la survie du muscle. Son absence due à des mutations du gène conduit à la dystrophie musculaire de Duchenne (DMD), maladie très invalidante dont les patients décèdent dans leur 3<sup>ème</sup> décennie. La dystrophie musculaire de Becker (BMD) est associée à des mutations du gène qui permettent l'expression de formes raccourcies de la dystrophine. La connaissance moléculaire de ces protéines est indispensable pour comprendre la diversité de phénotypes plus ou moins sévères des patients BMD et pour le développement de thérapies géniques. Dans le domaine de la biologie structurale, il est à ce jour nécessaire de développer des méthodologies adaptées à l'étude des protéines interfaciales, comme la dystrophine, dans les processus d'interaction membranaires.

#### Sujet

*Les hypothèses et questions posées (8 lignes)*

La structure tridimensionnelle de la dystrophine est en cours d'élucidation dans l'équipe par l'utilisation combinée de la diffraction des rayons X aux petits angles (SAXS) et de la modélisation moléculaire car cette grosse protéine n'est pas accessible aux méthodes de RMN et de cristallographie. Après avoir étudié la dystrophine seule, nous étudierons sa structure en présence de son partenaire membranaire. Nous avons acquis des données sur cette liaison et avons des indices sur des changements de structure en présence de lipides. Mais les détails moléculaires ne sont pas encore disponibles faute d'une méthodologie appropriée. Les apports du SAXS et de la diffraction des neutrons aux petits angles (SANS) doivent permettre des avancées significatives sur les questions en suspens. Il s'agit de développer ces approches pour étudier la conformation de la dystrophine ou des fragments de dystrophine en présence de modèles membranaires.

*Les grandes étapes de la thèse et démarche (10-12 lignes)*

L'obtention des protéines et de systèmes membranaires biomimétiques est maîtrisée par l'équipe et nous ciblerons tout d'abord un fragment de la dystrophine (R11-15) bien caractérisé. La première étape de la thèse consistera en l'optimisation des systèmes membranaires pour les études par SANS et SAXS, notamment via la préparation d'objets biochimiquement homogènes (liposomes ou nano-disques) et via un contrôle du degré de deutération des phospholipides pour la sélection des signaux spécifiques à la protéine (SANS) (6 premiers mois). Des acquisitions SAXS et SANS seront ensuite réalisées sur cette protéine associée à des phospholipides (6-24 mois). L'analyse des spectres expérimentaux donnera des informations sur l'organisation spatiale de ces objets moléculaires. Des modèles haute-résolution seront conçus par couplage de méthodes de simulation moléculaire et biophysiques (18-30 mois). Les modèles obtenus permettront de comprendre la topologie générale de la molécule en interaction avec les lipides membranaires et de définir avec précision les interactions fines de la dystrophine avec les phospholipides. L'étude sera ensuite élargie à l'analyse des structures à l'interface d'autres fragments de la dystrophine. Les influences de la nature des lipides et des degrés de courbure des bicouches lipidiques constitueront les derniers travaux de la thèse (24-36 mois).

*Approches méthodologiques et techniques envisagées (4-6 lignes)*

Biochimie des protéines (expression et purification)

Diffraction des rayons X (SAXS) et des neutrons (SANS) aux petits angles. Acquisitions sur lignes SOLEIL-LLB

Modélisation par homologie et dynamique moléculaire

#### Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes)

Le (la) candidat(e) devra avoir acquis les bases de biologie structurale-biophysique de niveau master 2.

Une connaissance en modélisation moléculaire sera une valeur ajoutée certaine.