

**FICHE SUJET DE THESE**

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	<b>FINANCEMENT :</b> <input checked="" type="checkbox"/> Demandé <input type="checkbox"/> Acquis	<b>Origine du financement : Contrat doctoral  Politique Doctorale</b>
Titre de la thèse : Etude des mécanismes régulant la dissociation entre PARP1 et l'ADN lésé		3 mots-clés : Réparation de l'ADN, chromatine, microscopie de fluorescence
Unité/équipe encadrante : Institut de Génétique et Développement de Rennes (IGDR), Equipe Régulation Spatio-Temporelle de la Transcription chez les Eucaryotes (SP@RTE)		
Directeur de thèse : Sébastien Huet		N° de tél : 0223234557 Mail : sebastien.huet@univ-rennes1.fr
<p><u>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</u>  La poly-ADP-ribose polymérase 1 (PARP1) est un acteur clé de la réponse cellulaire aux dommages dans l'ADN. Recruté très précocement au niveau des lésions de l'ADN, PARP1 catalyse l'ajout de chaînes de poly-ADP-ribose au niveau de protéines cible à savoir principalement PARP1 elle-même et les histones. Si les chaînes de PAR sont retrouvées sur différents types de résidus, il a récemment été montré que l'ADP-ribosylation des sérines jouait un rôle central lors de la réponse cellulaire aux dommages. Les chaînes de PAR signalent la présence des cassures pour d'autres protéines de réparation mais participent aussi au remodelage de la chromatine afin de faciliter l'accès aux lésions. La protéine PARP1 doit être recrutée précocement aux cassures pour initier certaines voies de réparation, mais elle doit aussi se détacher rapidement des cassures pour permettre l'arrivée d'autres acteurs. En effet, il a été montré que la cytotoxicité d'inhibiteurs de PARP utilisés en traitement anti-cancéreux est majoritairement causée par le piégeage de la protéine PARP1 inhibée sur les lésions, empêchant ainsi leur réparation. Si l'absence d'automodification de PARP1 en présence d'inhibiteur semble être un des facteurs expliquant ce phénomène de piégeage, des résultats récents suggèrent que d'autres mécanismes pourraient eux aussi réguler le recrutement transitoire de PARP1 aux sites de dommages.</p>		
<p><u>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</u>  Dans le cadre de ce projet de thèse en co-direction entre Sébastien Huet et Gyula Timinszky, chercheur travaillant à l'Académie des Sciences de Hongrie, nous souhaitons mettre en place une stratégie innovante fondée sur des méthodologies de microscopie optique avancées afin de pouvoir suivre directement en cellules vivantes le recrutement transitoire et l'activité de la protéine PARP1 au niveau de l'ADN lésé. A l'aide de ces outils, nous chercherons à déterminer la contribution spécifique des phénomènes de remodelage de la chromatine contrôlés par PARP1 ainsi que celle de l'ADP-ribosylation des résidus sérine dans la régulation du recrutement puis du relargage de PARP1 des zones d'ADN endommagé.</p>		
<p><u>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</u>  Ce projet de thèse débutera par la mise en place des outils d'analyse quantitative de la dynamique de la protéine PARP1 au niveau de dommages dans l'ADN induits par irradiation laser. La dynamique d'association/dissociation de PARP1 à l'ADN lésé sera analysée par microscopie confocale 4D et spectroscopie de corrélation de fluorescence. Par ailleurs, la dynamique conformationnelle de PARP1 lors de sa liaison à l'ADN et son autoPARylation sera suivie par transfert résonant d'énergie de fluorescence (FRET) intramoléculaire. Une fois ces outils en place, nous étudierons l'impact du remodelage de la chromatine induit par l'activité du remodelleur Alc1 sur les dynamiques du recrutement et du relargage de PARP1 au niveau des dommages en comparant ces dynamiques dans des cellules sauvages ou dépourvues de la protéine Alc1. Par ailleurs, la contribution de l'ADP-ribosylation des résidus sérine dans l'accumulation de PARP1 sur l'ADN lésé sera analysée en comparant la dynamique d'une version sauvage de PARP1 avec celle d'une version mutée pour les résidus sérine cibles de l'ADP-ribosylation.</p>		
<p><u>Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) :</u>  Nous recherchons un(e) candidat(e) avec un profil biologiste cellulaire et moléculaire. Une expérience préalable en microscopie optique sera appréciée. Le ou la candidat(e) devra aussi faire la preuve de son intérêt pour les méthodes d'imagerie quantitative.</p>		
<p><u>3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :</u>  1. Smith,R., Sellou,H., Chapuis,C., Huet,S. and Timinszky,G. (2018) CHD3 and CHD4 recruitment and chromatin remodeling activity at DNA breaks is promoted by early poly(ADP-ribose)-dependent chromatin relaxation. Nucleic</p>		

Acids Res., 46, 6087-6098

2. Singh,H.R., Nardoza,A.P., Möller,I.R., Knobloch,G., Kistemaker,H.A.V., Hassler,M., Harrer,N., Blessing,C., Eustermann,S., Kotthoff,C., et al. (2017) A Poly-ADP-Ribose Trigger Releases the Auto-Inhibition of a Chromatin Remodeling Oncogene. Mol. Cell, 68, 860–871.e7.

3. Sellou,H., Lebeaupin,T., Chapuis,C., Smith,R., Hegele,A., Singh,H.R., Kozlowski,M., Bultmann,S., Ladurner,A.G., Timinszky,G., et al. (2016) The poly(ADP-ribose)-dependent chromatin remodeler Alc1 induces local chromatin relaxation upon DNA damage. Mol. Biol. Cell, 27, 3791–3799.

Collaborations nationales et internationales :

Ce projet de thèse sera réalisé en co-direction avec le Dr. Gyula Timinszky, chercheur à l'Académie des Sciences de Hongrie à Szeged (Hongrie). L'équipe entretient depuis plusieurs années une collaboration étroite avec le Dr. Timinszky, celle-ci ayant déjà donné lieu 6 publications communes. Le projet de thèse impliquera la réalisation de séjours de longue durée au sein du laboratoire hongrois pour y effectuer certaines des expériences prévues dans le cadre du projet.