

Proposition de stage M2 2019-2020

Nom du responsable de stage : François-Xavier Theillet

Ecole Doctorale de Rattachement : Innovation thérapeutique du fondamental à l'appliqué

Nom du Laboratoire : Enveloppe nucléaire, télomères et réparation de l'ADN (Institut de Biologie Intégrative de la Cellule, UMR CNRS/CEA/Paris Sud)

Directeur : Jean-Baptiste Charbonnier

Adresse complète : Bât 144, CEA-Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette

site web : <http://www.i2bc.paris-saclay.fr/spip.php?article168>

Titre du stage :

Biologie structurale in-cell: comprendre l'agrégation des protéines dans leur environnement natif.

In-cell structural biology: atomic-scale depiction of proteins aggregation in their native environment.

Résumé du projet:

Nous avons développé récemment des méthodes pour la biologie structurale dans les cellules procaryotes et eucaryotes. Nous observons par spectroscopie RMN les protéines à l'échelle atomique dans des environnements complexes grâce au filtre isotopique ^{15}N ou ^{13}C ^{1,2}. Nous avons ainsi caractérisé dans des cellules neuronales la structure de l' α -synucléine¹, dont les agrégats amyloïdes sont retrouvés chez les patients atteints de la maladie de Parkinson.

D'autres protéines amyloïdogéniques sont impliquées dans de telles maladies neurodégénératives (Alzheimer, Charcot, ...). Elles ont en commun d'être composées de larges régions intrinsèquement désordonnées^{2,3,4}, qui les rendent très flexibles. Pour cette raison, leur structure est très dépendante de leur environnement, et on ne sait pas comment elles s'organisent dans leur environnement natif.

Nous proposons l'étude de ces protéines par une approche multi-disciplinaire utilisant à la fois les outils de biologie structurale et de biologie cellulaire. Nous voulons caractériser l'impact de l'environnement cellulaire sur la structure de ces protéines. Nous développerons notamment plus avant les méthodes pour la RMN *in cellulo*, (nouveaux marquages isotopiques, acides aminés non-naturels, lignées cellulaires stables inductibles...).

Les stagiaires seront familiarisés avec une grande variété de techniques (production recombinante de protéines, biophysique des interactions de protéines, biochimie, RMN, biologie cellulaire...) dans un environnement multidisciplinaire de haut niveau. Ils pourront développer les aspects qui les motivent le plus.

D'autres projets sont disponibles pour les candidats sur la signalisation du cancer (<http://www.agence-nationale-recherche.fr/?Project=ANR-14-ACHN-0015>) ou sur la régulation des facteurs de pluripotence par leurs modifications post-traductionnelles⁵. (Pour candidater, envoyez CV et relevé de notes, svp)

Références de l'équipe sur le sujet

- 1- Theillet FX et al. (2016) *Structural disorder of monomeric α -synuclein persists in mammalian cells*. **Nature**. 530 : 45-50.
- 2- Müntener T et al. (2016) *In-cell protein structures from 2D NMR*. **J Phys Chem Lett**. 14:2821-2825.
- 3- Theillet FX et al. (2014) *Physicochemical properties of cells and their effects on intrinsically disordered proteins*. **Chemical Reviews**. 6661-6714.
- 4- Borchers W. et al. (2014) *Disorder and residual helicity alter p53-Mdm2 binding affinity and signaling in cells*. **Nature Chemical Biology**. 10:1000-1002.
- 5- Theillet FX et al. (2013) *Site-specific NMR mapping and time-resolved monitoring of S/T phosphorylation*. **Nature Protocols**. 8 :1416-1432.