

Proposition de stage M2 2020-2021

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 :

Régulation de l'axe oncogène Mdm2:p53 par les modifications post-traductionnelles.

The regulation of the Mdm2:p53 complex by post-translational modifications.

Résumé du projet:

Un tiers du protéome humain est constitué de protéines dites désordonnées, i.e. sans structure tertiaire stable, qui contiennent 80% des sites de phosphorylation¹. Ces sites sont le plus souvent voisins et nous avons développé des outils de RMN permettant leur étude ces dernières années^{2,3,4}.

Nous avons montré que Mdm2, la principale ubiquitine-ligase du suppresseur de tumeur p53, est phosphorylée par CK1 (absence de stress) et DNAPK (dommages de l'ADN) sur ~20 sites de ses régions désordonnées⁴. Mdm2 et p53 sont très étudiées car très importantes dans l'oncogénèse. Les études structurales se font toujours sur des fragments non-phosphorylés pour éviter les difficultés pratiques du travail avec les régions désordonnées. Nous avons résolu ces problèmes biochimiques (expression/purification/stabilité) au laboratoire et travaillons désormais avec les protéines entières portant leurs phosphorylations natives.

Quel est l'impact de ses phosphorylations sur la conformation de Mdm2 ? et sur ses interactions avec p53 ? L'étudiant(e) produira et purifiera Mdm2 et p53 (productions déjà optimisées au laboratoire), analysera leurs phosphorylations, leurs interactions et leurs conformations par RMN, ITC et SAXS.

Ces travaux pourront se poursuivre lors d'une thèse qui étendra l'approche à la régulation de Mdm2:p53 par Chk2 (kinase) et Wip1 (phosphatase), en collaboration avec l'université de Darmstadt (A. Loewer).

Les stagiaires seront familiarisé(e)s avec: la production recombinante de protéines en bactérie, cellules d'insecte et mammifère (nouveaux marquages isotopiques, acides aminés non-naturels, ...), la biophysique des interactions (ITC, SPR, SAXS.), la biochimie des modifications post-traductionnelles, RMN, cristallographie...

(Pour candidater, envoyez CV et relevé de notes, svp)

Références de l'équipe sur le sujet

1- Theillet et al. (2014) *Physicochemical properties of cells and their effects on intrinsically disordered proteins*. **Chemical Reviews**. 6661-6714.

2- Theillet et al. (2013) *Site-specific NMR mapping and time-resolved monitoring of S/T phosphorylation*. **Nature Protocols**. 8 :1416-1432.

3- Mylona, Theillet et al. (2016) *Opposing effects of Elk-1 multisite phosphorylation shape its response to ERK activation*. **Science**. 354:233-237.

4- Alik A et al. (2020) *Sensitivity-Enhanced 13 C-NMR Spectroscopy for Monitoring Multisite Phosphorylation at Physiological Temperature and pH*. **Angew Chem** 59(26):10411-10415.

5- Borchers et al. (2014) *Disorder and residual helicity alter p53-Mdm2 binding affinity and signaling in cells*. **Nature Chemical Biology**. 10:1000-1002.