

Sujet de Master 2

Carine van Heijenoort

ICSN – UPR2301

1 avenue de la terrasse, 91190 Gif-sur-Yvette.

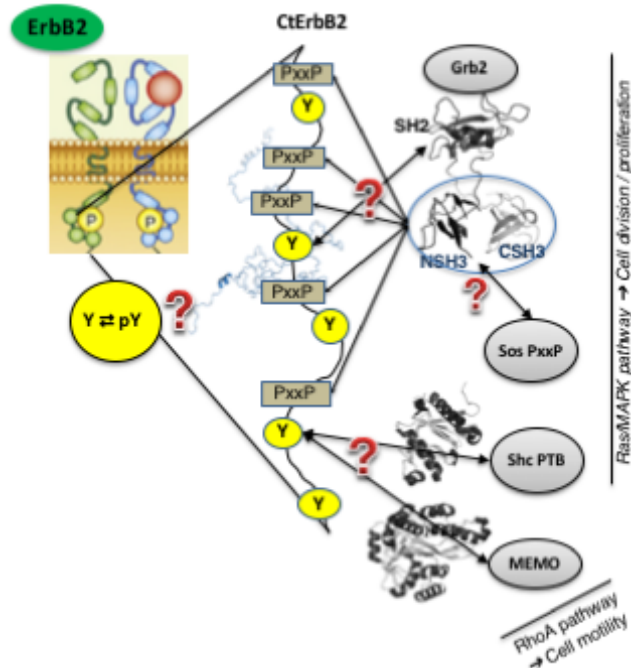
Département de chimie et biologie structurales et analytiques

Équipe RMN, Chimie et Biologie Structurales

carine.van-heijenoort@cns.fr

Analyse structurale des mécanismes d'activation de la partie C-terminale du récepteur de la tyrosine kinase ErbB2.

Contexte – Les récepteurs tyrosine kinase jouent un rôle essentiel dans la transduction de signaux extracellulaires en signaux intracellulaires, permettant à la cellule de s'adapter à son environnement. Il n'est pas surprenant que la surexpression de cette classe de protéines conduise à des dérèglements physiologiques majeurs, en particulier des tumeurs malignes. ErbB2 est surexprimé dans environ 25% des cancers du sein. Cette surexpression entraîne l'activation constitutive de voies de signalisation associées à son activité tyrosine kinase pouvant induire plusieurs caractéristiques des cellules cancéreuses dont la prolifération, la résistance à l'apoptose et l'augmentation de la mobilité cellulaire. Les études réalisées jusqu'à présent se sont concentrées sur les domaines extracellulaires et transmembranaires et ont conduit à une thérapie efficace contre le cancer du sein. Cependant, seuls 30% des tumeurs liées à ErbB2 répondent au traitement (trastuzumab) et deviennent de plus résistantes au traitement dans les trois ans qui suivent son début.



Ce projet se situe dans la continuité d'une thèse. L'objectif est de décrire et comprendre le fonctionnement de l'édifice supramoléculaire associé au

domaine C-terminal intrinsèquement désordonné d'ErbB2 (CtErbB2, 276aa), dont les phosphorylations conduisent à l'interaction avec plusieurs protéines effectrices et l'activation de multiples processus cellulaires. Les challenges de ce projet à long terme sont d'une part, l'étude d'interactions multiples avec un domaine intrinsèquement désordonné de grande taille (276aa) riche en prolines et conditionnées par plusieurs phosphorylations, d'autre part, l'intégration des résultats dans un contexte plus large, à la fois in vitro au sein de la protéine entière, puis dans un contexte cellulaire (projet en partenariat avec Ali Badache, Centre de Cancérologie de Marseille) et thérapeutique.

Travail de recherche – Actuellement, nous maîtrisons au laboratoire les conditions d'expression de CtErbB2 en grande quantité compatible avec une étude RMN et nous avons caractérisé par RMN le domaine non-phosphorylé. L'optimisation des conditions de phosphorylation du domaine est en bonne voie. L'interaction de CtErbB2 avec un de ses partenaire cellulaire, la protéine Grb2, est bien avancée. Grb2, une protéine modulaire constituée de trois domaines, SH3-SH2-SH3 joue un rôle crucial dans la phosphorylation de ErbB2 et son activation.

Le projet de master portera sur une des questions suivantes :

I- Caractérisation de la phosphorylation de la partie C-terminale de ErbB2

Nous poursuivons les stratégies actuellement développées au sein du laboratoire pour la production de la partie intracellulaire de ErbB2, comprenant le domaine kinase et le fragment C-terminal de ErbB2 et pour l'obtention du fragment C-terminal CtErbB2 phosphorylé. Les objectifs seront ici de :

- (i) Optimiser les conditions d'obtention du domaine C-terminal phosphorylé et de la partie cytoplasmique de ErbB2 (kinase+domaine C-terminal).
- (ii) Étudier par RMN le degré de structuration et la dynamique de la partie C-terminale phosphorylée
- (iii) Étudier par RMN le degré de structuration et la dynamique de la partie C-terminale lorsqu'elle est accrochée à sa kinase (i.e. au sein de la partie intracellulaire de ErbB2)
- (iv) Caractériser l'activité de la kinase produite, et analyser le processus de phosphorylation de CtErbB2 *in vitro*.

II- Comprendre les mécanismes de reconnaissance spécifiques de protéines adaptatrices et leur rôle dans l'activation des multiples processus cellulaires dans lesquels ErbB2 est impliqué.

Les objectifs seront ici de :

- (i) Poursuivre l'étude de l'interaction CtErbB2/GrB2 pour mieux comprendre comment GrB2 reconnaît spécifiquement l'un des sites phosphorylés de ErbB2.
- (ii) Commencer à étudier l'interaction de CtErbB2 avec le domaine PTB (Phosphotyrosine Binding) de Shc. Ce domaine reconnaît à priori deux tyrosines phosphorylées de CtErbB2 (pY1201 et pY1227) et joue un rôle dans la promotion de la prolifération et la désorganisation des cellules épithéliales

Environnement scientifique – Le stage se déroulera au Laboratoire de Biologie et Chimie Structurales de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN) à Gif-sur-Yvette. Le laboratoire possède tout l'équipement pour la production, la purification et la caractérisation des protéines recombinantes. Il dispose d'un parc de spectromètres RMN exceptionnel, avec 4 spectromètres 600, 700, 800 et 950MHz équipés pour les études en biologie structurale. Le 950MHz fait partie de la plateforme nationale "IR (Infrastructure de Recherche) RMN", ouverte à 30% du temps pour la communauté française, apportant ainsi de nombreuses opportunités d'échanges avec la communauté RMN et plus généralement des biologistes et des chimistes. Par ailleurs, le laboratoire est impliqué dans de nombreux réseaux au sein du grand campus Paris-Saclay, avec en particulier de nombreux contacts avec les biologistes, les structuralistes et les chimistes de la région Parisienne. Il fait partie des Infrastructures nationales en biologie et santé FRISBI et IBISA.