

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Imagerie et modélisation en neurobiologie et cancérologie (IMNC)

Adresse : IMNC - UMR 8165 Rue des Adèles Campus d'Orsay Bâtiment 440 91405 ORSAY Cedex

Directeur du laboratoire : Philippe Lanièce

Équipe de recherche (si pertinent) : IBIV

Responsable de l'équipe : Frédéric Pain

Responsable de stage : Darine Abi Haidar

Adresse électronique : abihaidar@imnc.in2p3.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : 564 Physique en île-de-France

Profil recherché : Biophysicien

Possibilité de poursuite en thèse : OUI - NON

Si oui financement envisagé :

Titre du stage : Banque de donnée tissulaire multimodale multi-échelle des prélèvement de tissu cérébral humain

Résumé :

Contexte scientifique

Le stage s'inscrit dans le cadre d'un projet scientifique pluridisciplinaire rassemblant physiciens, médecins et biologistes. Ce projet intitulé « Intraoperative Multimodal Optical Probe » a obtenu le soutien financier du programme « Plan Cancer ». Dans ce cadre, l'équipe « Imagerie Biophotonique In Vivo » du laboratoire IMNC, le service de neurochirurgie de l'hôpital Saint-Anne (Professeur Bertrand DEVAUX (neurochirurgie) et Dr. Pascale Varlet (anatomopathologie)) et la ligne DISCO du synchrotron SOLEIL travaillent en étroite collaboration.

Cadre de travail et objectifs

Le succès de toute chirurgie oncologique, qui représente une étape cruciale du traitement des tumeurs y compris cérébrales repose sur l'identification précise de l'ensemble des limites tumorales. Différents protocoles d'imagerie ont été mis en place pour guider la chirurgie oncologique (Barone 2014). Si ces techniques ont permis de réaliser des gestes chirurgicaux plus précis et moins invasifs, les limites des systèmes d'imagerie externes ont été rapidement atteintes tant au niveau des performances que de l'ergonomie (Spena 2014). En **neurochirurgie, les enjeux de la chirurgie oncologique sont identiques mais leur réalisation est rendue plus difficile par le caractère particulièrement infiltrant des tumeurs cérébrales**, au sein d'un organe hautement fonctionnel. L'enjeu majeur de toute intervention neurochirurgicale oncologique répond donc à l'optimisation de la balance onco-fonctionnelle. La résection est guidée par la délimitation des berges de l'infiltration tumorale, qu'il conviendra de retirer, et des zones cérébrales éloquentes, qu'il conviendra de respecter. **L'identification de l'infiltration tumorale cérébrale n'est pas possible aujourd'hui en conditions opératoires** et elle nécessite le développement d'un outil d'imagerie performant et fiable en s'appuyant sur une solide base de données d'imagerie des gliomes infiltrants.

Nous souhaitons répondre à cette problématique en utilisant l'**imagerie non linéaire multimodale** pour imager différents **prélèvements étagés (ciblant les différentes composantes lésionnelles : infiltration, nécrose, néovascularisation, tissu tumoral) et orientés (mise en correspondance avec les données de l'IRM pré-opératoire 3T en séquences morphologiques, spectroscopiques, de diffusion, de perfusion) de gliomes infiltrants chez l'humain**. Ces données constitueront une banque de donnée tissulaire qui servira à établir les bases d'un futur outil de diagnostic en temps réel. Pour visualiser l'infiltration cérébrales des gliomes infiltrants, nous envisageons d'utiliser les modalités d'imagerie suivantes : 1) l'imagerie de la fluorescence sous excitation mono- et bi-photonique ; 2) l'imagerie de la génération de la seconde harmonique ; 3) l'imagerie spectroscopique et 4) l'imagerie de la durée de vie de la fluorescence sous excitation non linéaire. L'utilisation des quatre modalités d'imagerie facilitera l'identification de cette zone frontière entre tumeur et parenchyme sain. Ces données seront couplées aux données cliniques, d'imagerie morphologique et fonctionnelle, anatomo-pathologiques et moléculaires issues de l'analyse clinique de routine chez les patients étudiés.

Le/la stagiaire aura une double mission et travaillera sur deux sites: (1) l'imagerie de la fluorescence sous excitation non linéaire des prélèvements tissulaires humains dans la plateforme PIMPA à Orsay et (2) la caractérisation des biopsies humaines spectrale et temporelle au service anatomopathologiste de l'hôpital Saint-Anne.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : CBMN, UMR 5248

Adresse : Bat. B14, allée Geoffroy St. Hilaire, 33600 Pessac

Directeur du laboratoire : Erick Dufourc

Équipe de recherche (si pertinent) :

Responsable de l'équipe : Sophie LECOMTE

Responsable de stage : Isabel ALVES

Adresse électronique : i.alves@cbmn.u-bordeaux.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : Ecole doctorale de Chimie

Profil recherché : biophysique/electrochimie

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : demande en cours

Titre du stage : Couplage de la résonance plasmonique aux ondes guidées à des mesures d'impédance

Résumé :

La résonance plasmonique couplée aux ondes guidées (PWR en anglais) est une technique unique et non-commercialisée qui permet de suivre directement et en temps réel l'activité des protéines membranaires et l'interaction des protéines ou peptides avec la membrane lipidique avec une sensibilité de l'ordre du femtomolaire. Vu l'activité canal et ionophore d'une grande partie de ces protéines et les effets de plusieurs peptides membranotropes (comme les peptides vecteurs et antimicrobiens) au niveau de l'intégrité de la membrane, une caractérisation de ses paramètres électriques reste essentielle.

Le couplage de la PWR à des mesures in situ d'impédance (PWR-IS) est proposé pour obtenir simultanément des informations sur l'affinité de la protéine/peptide à la membrane, l'orientation et le changement structural, ainsi que des informations sur l'ouverture des canaux ou la formation de pores dans le cas des peptides ayant des effets sur l'intégrité de la membrane. Les premières mesures sur un prototype « fait maison » s'avèrent très prometteuses.

Pour ces études un candidat avec une formation en électrochimie sera souhaitable.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire de Biologie Structurale et Radiobiologie

Adresse : Bâtiment 144, CEA Saclay, 91191 Gif sur Yvette cedex

Directeur du laboratoire : Jean-Baptiste CHARBONNIER

Équipe de recherche : Assemblages moléculaires et intégrité du génome

Responsables de l'équipe : Françoise OCHSENBEIN et Raphaël GUEROIS

Responsables de stage : Jessica ANDREANI et Raphaël GUEROIS

Adresse électronique : jessica.andreani@cea.fr ; guerois@cea.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED 425 Innovation thérapeutique

Profil recherché : Bioinformatique, biologie structurale

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : Programme doctoral IDI (Initiative Interdisciplinaire) IDEX Paris-Saclay ou concours Ecole Doctorale

Titre du stage : Prédiction structurale des interactions protéine-protéine en utilisant l'information évolutive

Résumé :

Les interactions protéine-protéine sont au cœur de la plupart des processus biologiques. Notre équipe s'intéresse à la façon dont les surfaces d'interaction entre protéines contrôlent la communication entre différentes machineries cellulaires, avec un intérêt particulier pour les machineries modulant l'établissement de l'information épigénétique [1,2]. Au cours des dernières années, notre équipe a contribué à améliorer les méthodes de prédiction des structures de complexes protéiques en intégrant la dimension évolutive aux outils traditionnels [3,4,5]. L'exploitation combinée des structures et des séquences protéiques a permis de renforcer la fiabilité de nos prédictions, ce qui s'est traduit par de très bons résultats au concours international de prédiction CAPRI [6,7].

Le projet de stage vise à poursuivre le développement de nos outils de prédiction des structures de complexes protéiques. Notre serveur InterEvDock permet d'identifier correctement les régions d'interaction en surface des partenaires pour la grande majorité des complexes testés, mais pas systématiquement de capturer la conformation de l'interface dans ses détails atomiques [5]. De plus, InterEvScore est un outil gros grain qui ne permet pas l'exploitation de certains descripteurs structuraux de niveau plus fin conservés dans les interfaces de complexes [3]. L'objectif principal du stage sera donc de développer un module complémentaire pour le raffinement des modèles structuraux de complexes et la sélection de modèles à haute résolution en utilisant l'information évolutive. Plusieurs autres axes d'amélioration sont également envisagés, en particulier l'utilisation de nouvelles méthodes d'apprentissage et de traitements statistiques plus raffinés et la révision de l'intégration des alignements de séquences multiples dans nos outils. La finalité est à la fois de disposer d'un pipeline plus complet dans le cadre des nombreuses interactions avec nos collaborateurs expérimentalistes et de notre participation au concours CAPRI, et de mettre des outils améliorés à la disposition des communautés de bioinformatique et de biologie structurale.

[1] Richet N, Liu D, [...], Guerois R, Compber C, Besle A, Guichard B, Almouzni G, Ochsenbein F. Structural insight into how the human helicase subunit MCM2 may act as a histone chaperone together with ASF1 at the replication fork. *Nucleic Acids Res* (2015) 43(3):1905-17.

[2] Jiao Y, Seeger K, Lautrette A, Gaubert A, Mousson F, Guerois R, Mann C, Ochsenbein F. Surprising complexity of the Asf1 histone chaperone-Rad53 kinase interaction. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2012) 109(8):2866-71.

[3] Andreani J, Faure G, Guerois R. Versatility and invariance in the evolution of homologous heteromeric interfaces. *PLoS Comput Biol* (2012) 8(8):e1002677.

[4] Andreani J, Faure G, Guerois R. InterEvScore: a novel coarse-grained interface scoring function using a multi-body statistical potential coupled to evolution. *Bioinformatics* (2013) 29(14):1742-9.

[5] Yu J, Vavrusa M, Andreani J, Rey J, Tuffery P, Guerois R. InterEvDock: a docking server to predict the structure of protein-protein interactions using evolutionary information. *Nucleic Acids Res* (2016) 44(W1):W542-9.

[6] Lensink M, [...], Yu J, Ochsenbein F, Guerois R, [...], Wodak S. Prediction of homoprotein and heteroprotein complexes by protein docking and template-based modeling: A CASP-CAPRI experiment. *Proteins* (2016) 84 Suppl 1:323-48.

[7] Yu J, Andreani J, Ochsenbein F, Guerois R. Lessons from (co-)evolution in the docking of proteins and peptides for CAPRI rounds 28-35. *Proteins* (2016) in press.

PROPOSAL FOR M2 Internship AND / OR THESIS

Laboratory : Institut Lumière Matière (ILM), Equipe Biophysique

Adress : ILM, Univ. Claude Bernard Lyon1, 43 Boul. du 11 novembre, 69622 Villeurbanne.

Supervisors: Christophe ANJARD, Jean-Paul RIEU

Email : christophe.anjard@univ-lyon1.fr

Doctoral school ID: ED 52, Physique et Astrophysique

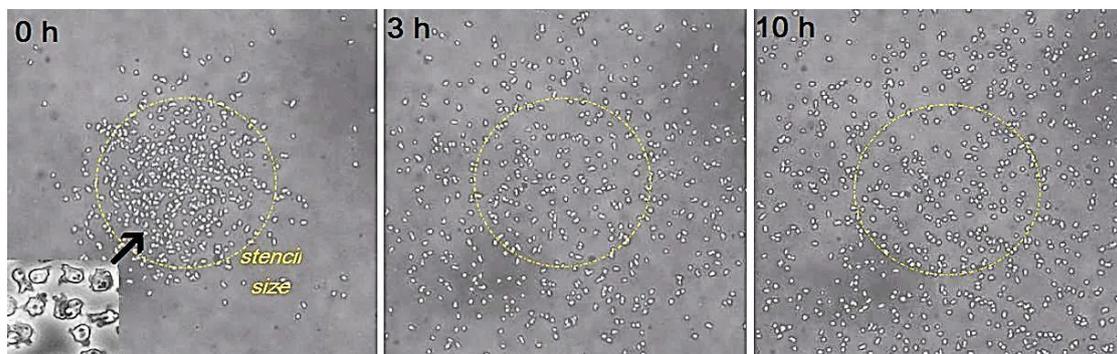
Profil: Biophysicien, Physicien, Biologiste

Possibility to continue for PhD thesis: Yes

Possible financing : Allocation doctorale de Recherche des Ecoles Doctorales

Stage title: Role of contact interactions and secreted factors in the emergence of social behavior in the amoeba *Dictyostelium Discoideum*

Dictyostelium is a unicellular amoeba used as simple model organism to investigate coordinated cell movements and emergence of social behavior. As long as nutrients are present, *Dictyostelium* cells multiply as unicellular amoebae (vegetative growth). However, when cells deplete their food source and begin to starve, they enter a developmental cycle: cells become polarized, express new proteins allowing cell to cell adhesion such as to form a motile multicellular organism. It was initially thought that vegetative cells were dividing and moving randomly, without interacting much with each other. We have recently showed that the parameters defining cell migration (speed, persistence time, polarization) are regulated by a secreted « quorum sensing factor » (QSF) that accumulates with time¹. Using PDMS stencils (see figure), we analyzed how QSF would affect the behavior of micro-colonies of various cell density. We discovered that the initial, colony spreading is too fast to follow a simple diffusion equation¹ with a single diffusion coefficient. By measuring the cells motility parameters, we concluded that cells become temporarily more persistent upon their frequent collisions with each other. At longer time, the average cell speed is reduced upon conditioning by QSF².



The present internship is in the continuity of the previous PhD work²: **To analyze cell to cell communication in Dictyostelium through secreted factors (QSF) and upon collision.** For this, we are planning to continue our work to identify signaling pathways by comparing the behavior of various mutants as well as the effects of known signaling drugs using the same radial spreading geometry or using an homogenous 2D environment. We will then focus on statistical analysis of collision between two cells by confining them to follow trajectories to collide with various angles. We will also study these collisions at higher resolution, specially the organization of the actin cytoskeleton at the level of filopods using fluorescent microscopy as well as 4D traction force microscopy (xyzt)³. Model of population behaviors or particles dynamic will be developed in collaboration with theoreticians.

Key words: Motility, collective motility, cell signaling, active matter, micro-fabrication.

¹ Fisher-Kolmogorov-Petrovskii-Piskunov (FKPP) voir par ex J.D. Murray. *Mathematical Biology I: An Introduction*. 2001)

¹ L. Gole, C. Rivière, Y. Hayakawa, J. P. Rieu (PLoS One, 2011)

² Joseph d'Alessandro PhD thesis at UCBL and article in preparation

³ Delanoë-Ayari H, Rieu JP, Sano M. 4D traction force microscopy reveals asymmetric cortical forces in migrating *Dictyostelium* cells. *Phys Rev Lett.* **105** (2010) 248103

PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE

Laboratoire : Institut Lumière Matière (ILM), Equipe Biophysique

Adresse : ILM, Univ. Claude Bernard Lyon1, 43 Boul. du 11 novembre, 69622 Villeurbanne.

Responsables de stage : Christophe ANJARD, Jean-Paul RIEU

Email : christophe.anjard@univ-lyon1.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED 52, Physique et Astrophysique

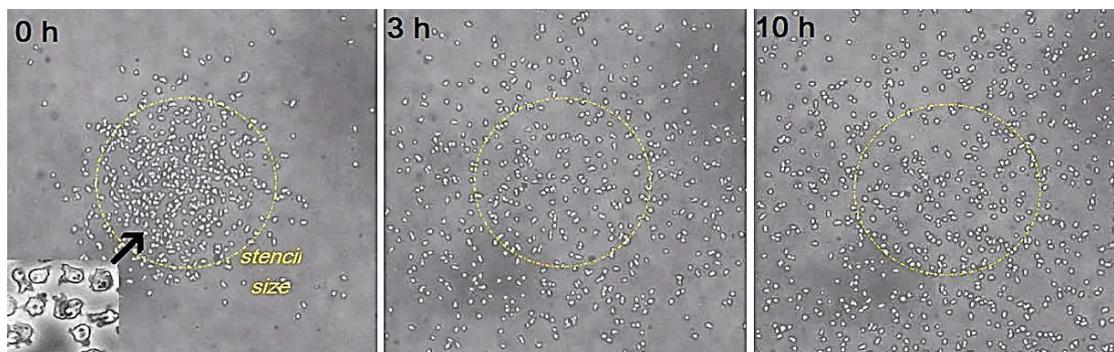
Profil recherché : Biophysicien, Physicien, Biologiste

Possibilité de poursuite en thèse : Oui

Financement envisagé : Allocation doctorale de Recherche des Ecoles Doctorales

Titre du stage : Emergence de comportements sociaux par interactions de contacts et facteurs sécrétés chez l'amibe *Dictyostelium Discoideum*

Dictyostelium est un organisme unicellulaire modèle dit « social ». En carence de nutriments, celles-ci entrent dans un cycle de développement : elles se polarisent, expriment des protéines d'adhésion cellule-cellule, s'agrègent et se différencient pour former un organisme multicellulaire motile. En milieu nutritif, la cellule se divise et se déplace de façon aléatoire, en principe sans interagir beaucoup avec les autres (état unicellulaire). Nous avons pourtant récemment mis en évidence le fait que, dans cet état unicellulaire, les paramètres caractérisant la migration (vitesse, temps de persistance) sont régulés par un « quorum sensing factor » (QSF) sécrété au cours du temps par les cellules ¹. Ensuite, nous avons étudié comment ce premier mode de communication pouvait affecter le comportement d'une colonie plus ou moins dense de cellules en utilisant la méthode des micro-pochoirs (« PDMS Stencils », voir Figure). Nous nous sommes aperçus que l'étalement initial et rapide de la colonie n'obéit pas à une simple équation de diffusion avec un unique coefficient de diffusion des cellules mesurable par ailleurs par suivi de cellules. Les cellules lors de leurs fréquentes collisions semblent devenir au moins temporairement plus persistantes. Aux temps plus longs, le coefficient de diffusion déterminé à partir de l'analyse des déplacements carrés moyens des cellules diminue à cause des effets de conditionnement par les QSF ².



Le stage proposé s'insère dans la continuité de ce travail de thèse ²: **analyser les modes de communications cellules-cellules chez *Dictyostelium* par facteurs sécrétés (QSF) et par contacts (collisions)**. Nous proposons pour cela de poursuivre la recherche des voies de signalisations impliquées en étudiant le comportement de divers mutants et l'effet d'agents chimiques solubles dans cette géométrie d'étalement radiale ou dans un environnement 2D homogène. Ensuite, nous initierons plus spécifiquement des études statistiques des collisions à deux cellules en confinant les trajectoires des cellules sur des « routes » se rencontrant avec divers angles. Nous étudieront aussi ces collisions à plus haute résolution et en particulier l'organisation de l'actine dans et hors des filopodes par microscopie et par microscopie de force de traction 4D (xyzt) ³. Des modèles de comportements de populations ou de dynamique de particules pourront alors être développés en collaboration avec des théoriciens.

Mots clés : Motilité, Mouvements collectifs, Signalisation, Micro-fabrication, Matière active

¹ Fisher-Kolmogorov-Petrovskii-Piskunov (FKPP) voir par ex J.D. Murray. *Mathematical Biology I: An Introduction*. 2001)

² L. Gole, C. Rivière, Y. Hayakawa, J. P. Rieu (PLoS One, 2011)

³ Joseph d'Alessandro Thèse de l'UCBL et article en préparation

³ Delanoë-Ayari H, Rieu JP, Sano M. 4D traction force microscopy reveals asymmetric cortical forces in migrating *Dictyostelium* cells. *Phys Rev Lett.* **105** (2010) 248103

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Reproduction et Développement des Plantes

Adresse : ENS de Lyon, 46 allée d'Italie, 69007 Lyon

Directeur du laboratoire : Teva VERNOUX

Équipe de recherche (si pertinent) : Biophysique et Développement

Responsable de l'équipe : Arezki BOUDAUD

Responsable de stage : Arezki BOUDAUD

Adresse électronique : arezki.boudaoud@ens-lyon.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED340 BMIC

Profil recherché : le projet sera adapté au profil de l'étudiant

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Concours Ecole Doctorale

Titre du stage : From stochastic cells to robust organ shape

Résumé : Despite many breakthroughs in developmental genetics, how an organism reaches its final size and shape is still poorly understood. More strikingly, many organisms have a remarkably consistent shape, yet at the cellular level, cell growth and shape can be highly variable. We aim to unravel how reproducible organ shape emerges from stochastic cell behavior. We propose that individual cells can sense global organ shape and coordinate their behavior during development, involving mechanisms that filter out variability between cells. Our primary goal is to discover these mechanisms, using Arabidopsis since it produces a large number of identical organs.

We focus on the abaxial sepal, which exhibits both very consistent morphology and substantial cell variability while it is accessible for experiments. The large number of abaxial sepals per plant enables defining variability in shape as a trait and to screen for mutants affected for this trait. More specifically, we are screening mutants for enhanced variability in sepal size so as to identify genes involved in shape sensing and growth coordination. We are quantifying cell growth and its determinants, in wild-type and in mutants, using advanced live imaging and biophysical measurements (e.g. Atomic force microscopy). We are developing methods in information theory to reveal correlations in cell behavior that reflect coordinating mechanisms. Finally, we are combining mechanical models of growth with molecular, micromechanical, and live imaging tools to test these mechanisms.

The subproject will be defined according to the student's interests, based on the most promising mutants identified in the screens and on the technical approaches developed by the host team and their collaborators. Possible focus themes include biochemical signals, mechanical signals, regulation of the plant cell wall or of turgor pressure. The student will characterize one or a few mutants, and address how the corresponding genes are involved in buffering the variability of phenotypes. Alternatively, the student will work on physical stochastic models of growth to explain the links between cellular stochasticity and organ robustness.

Selection of publications of the team

- L. Hong#, M. Dumond#, S. Tsugawa#, A. Sapala, A.-L. Routier-Kierzkowska, Y. Zhou, C. Chen, A. Kiss, M. Zhu, O. Hamant, R. S. Smith, T. Komatsuzaki, C.-B. Li, A. Boudaoud* & A. H. K. Roeder*. Variable cell growth yields reproducible organ development through spatiotemporal averaging. *Dev. Cell* 38,15–32 (2016).

- P. Milani#, V. Mirabet#, C. Cellier, F. Rozier, O. Hamant, P. Das*, A. Boudaoud*. Matching patterns of gene expression to mechanical stiffness at cell resolution through quantitative tandem epifluorescence and nano-indentation. *Plant Physiol.* 165, 1399–1408 (2014).

Lett. 109, 144302 (2012).

- M. Uyttewaal#, A. Burian#, K. Alim#, B. Landrein, D. Borowska-Wykret, A. Dedieu, A. Peaucelle, M. Ludynia, J. Traas, A. Boudaoud*, D. Kwiatkowska* & O. Hamant*. Mechanical Stress Acts via Katanin to Amplify Differences in Growth Rate between Adjacent Cells in Arabidopsis. *Cell* 149, 439-451 (2012).

- V. Mirabet, F. Besnard, T. Vernoux* & A. Boudaoud*. Noise and robustness in phyllotaxis. *PLoS Comput. Biol.* 8, e1002389 (2012).

« PROPOSITION DE STAGE ET DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire d'expression génétique microbienne (UMR 8261) à l'Institut de biologie physico-chimique (IBPC).

Adresse : 13 rue Pierre et Marie Curie – 75005 PARIS

Directeur du laboratoire : Harald Putzer

Équipe de recherche : Biogenèse, architecture et interactions des ARNs

Responsable de l'équipe : Carine Tisné

Responsable de stage : Pierre Barraud et Carine Tisné

Adresse électronique : pierre.barraud@cncrs.fr ; carine.tisne@cncrs.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED MTCl n°563

Profil recherché : Biologie structurale, biochimie, cristallographie macromoléculaire, RMN, biophysique

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Financement ANR PRCI obtenu conjointement avec l'équipe du Prof. M. Jantsch

Titre du stage : Reconnaissance moléculaire d'un signal de localisation nucléaire bimodulaire

Résumé : Les phénomènes de transport entre le noyau et le cytoplasme à travers les pores nucléaires sont des mécanismes essentiels et hautement régulés dans les cellules eucaryotes. Les protéines, et les complexes multi-moléculaires sont reconnus par des récepteurs de transport appelés karyophérines. Les interactions entre les cargos et les récepteurs sont extrêmement spécifiques afin que seuls les complexes parfaitement constitués ne soient transportés d'un compartiment à l'autre. La protéine Transportine-1 (Trn1) est un récepteur d'import nucléaire central dans la vie de la cellule. Récemment, nous avons découvert qu'un domaine de liaison à l'ARN au sein de l'enzyme humaine ADAR1 présente un signal de localisation nucléaire en deux modules (signal de localisation bimodulaire). Cet arrangement particulier rend l'association entre Trn1 et le signal bimodulaire de ADAR1 sensible à la présence d'ARN.

Ce projet, réalisé en collaboration étroite avec le groupe du Prof. Michael Jantsch (University of Vienna), donnera accès à terme à une compréhension détaillée des règles moléculaires qui régissent la reconnaissance de ce nouveau signal de localisation nucléaire par Trn1 et à une description fine de la façon dont cette reconnaissance est régulée par la présence d'ARN. De plus, notre étude éclaircira les diverses fonctions de la protéine ADAR1 qui intervient à la fois comme une enzyme de modification qui s'attaque aux infections virales, mais aussi comme une enzyme qui modifie des substrats ARN endogènes.

La production des différents partenaires protéiques (Trn1 et le signal de localisation bimodulaire) est bien maîtrisée au laboratoire et des cristaux de Trn1 ont récemment été obtenus (4,2 Å de résolution). Dans le cadre de ce stage de M2, l'étudiant(e) travaillera ainsi principalement à la production et la purification des partenaires protéiques ainsi qu'à l'optimisation des cristaux du complexe macromoléculaire, à la collection et à l'analyse des données de diffraction en vue d'une détermination structurale.

Approches & matériel utilisés : Surexpression des protéines dans *E. coli*, purification par chromatographie. Cristallogénèse, optimisation des cristaux de complexes et collectes au synchrotron. Résolution de structure. Étude d'interactions par ITC et/ou RMN avec des marquages isotopiques préalables.

Publications pertinentes de l'équipe :

- Barraud P, Banerjee S, Mohamed WI, Jantsch MF, Allain FH. A bimodular nuclear localization signal assembled via an extended double-stranded RNA-binding domain acts as an RNA-sensing signal for transportin 1. *Proc Natl Acad Sci USA*. (2014) 111(18):E1852-61.
- Banerjee S, Barraud P. Functions of double-stranded RNA-binding domains in nucleocytoplasmic transport. *RNA Biol*. (2014) 11(10):1226-32.
- Barraud P, Golinelli-Pimpaneau B, Atmanene C, Sanglier S, Van Dorsselaer A, Droogmans L, Dardel F, Tisné C. Crystal structure of *Thermus thermophilus* tRNA m1A58 methyltransferase and biophysical characterization of its interaction with tRNA. *J Mol Biol*. (2008) 377(2):535-50.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire de Physique Statistique de l'ENS

Adresse : 24 rue Lhomond

Directeur du laboratoire : Jorge KURCHAN

Équipe de recherche (si pertinent) : Laboratoire ABCD de biophysique moléculaire

Responsable de l'équipe : David Bensimon et Vincent Croquette

Responsable de stage : David Bensimon et Bertrand Ducos

Adresse électronique : david@lps.ens.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :

Profil recherché : Physicien ou Biologiste intéressé par la Biologie Quantitative

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Bourse de thèse

Titre du stage : Etude quantitative par optogénétique de la somitogénèse dans le poisson zèbre

Résumé :

Notre équipe a développé des techniques optogénétiques originales qui nous permettent de contrôler la concentration des morphogènes impliqués dans la somitogénèse, en particulier l'acide rétinoïque (RA) et le facteur de croissance Fgf8. Nous utilisons ces techniques pour tester le « clock and wavefront model » de la somitogénèse, en particulier le modèle de Goldbeter et Pourquie (GP, Dev.Dyn.2007).

Il s'agit en modifiant les concentrations de Fgf8 et RA par une photo-activation non-invasive de mesurer par microscopie en « time-lapse » la réponse somitogénétique : la période spatiale et temporelle de la segmentation, la vitesse du front morphogénétique, la vitesse de croissance, etc.

Il s'agit de compléter ces études en temps réel par des mesures quantitatives sur des embryons fixés à des temps donnés de la distribution spatiale des différents acteurs impliqués dans la somitogénèse : Fgf8, Erk, RaldH, Cyp26, etc. Ces mesures se font par hybridation in-situ ou par marquage immuno-histo-chimique. En parallèle le suivi temporel quantitatif de la concentration des ARNm de ces acteurs se fait par RT-qPCR .

Il s'agit enfin de comparer ces observations avec les résultats de simulations de différents modèles de la somitogénèse, dont le modèle GP. Il apparaît d'ores et déjà que le modèle GP doit être revu, car des boucles de rétroactions non-prévues par ce modèle existent entre certains des acteurs de la somitogénèse.

La possibilité d'appliquer des perturbations spatio-temporelles localisées et la comparaison quantitative entre la réponse somitogénétique à ces perturbations et les simulations de différents modèles devrait apporter une meilleure compréhension de la somitogénèse. Les résultats attendus devraient aussi démontrer l'utilité de ces perturbations opto-génétiques localisées et non-invasives dans l'étude des réseaux physiologiques impliqués dans le développement.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Alteration of lung fluid properties in presence of nanoparticulate matter

Supervisor: *Indicate the references of the person who will directly supervise the student's project..*

Name: Jean-François Berret

E-mail: jean-francois.berret@univ-paris-diderot.fr

Phone: 01 57 27 61 47

Affiliation: Laboratory Matière et Systèmes Complexes, Université Paris-Diderot

Host Laboratory: *Indicate the references of the laboratory where the student will work for the project.*

Affiliation: Université Paris-Diderot

Lab Name : Laboratoire Matière et Systèmes Complexes

Director Laurent Limat

Address : UMR 7057 Université Paris-Diderot/CNRS, Batiment Condorcet,
10 rue Alice Domon et Léonie Duquet, F-75205 Paris Cedex 13

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : EDPIF Physique / Approches Interdisciplinaires du Vivant (AIV)

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Agence Nationale pour la Recherche

Describe the team that the student will join for the project.

The intern will join a group of 6 researchers, composed of 3 PhD (Fanny Mousseau, Chloé Puisney, Alexandra Lanière), 2 postdocs (Evdokia Oikonomou, Victor Baldim). Our research group develops novel functional nanostructures with stimuli-responsive features. The particles, proteins and biomacromolecules are elementary bricks of colloidal scaffolds designed for applications. Based on techniques of non-covalent assembly, this approach offers versatility and simplicity for the fabrication of novel and functional nanomaterials. A second objective of our research deals with the applications of these nanomaterials in medicine, biology and in environment. It includes their use as tools for imaging and therapy in living cells and tissues, as well as the study of their cyto- and genotoxicity.

Project description

Lungs are large, spongy, air- filled organs that provide a large surface area for efficient gas exchange, transporting oxygen into the blood and removing CO₂. Lungs have two main airway regions, the conducting zones and the respiratory zones. The conducting zones (upper airways and bronchi) form a passageway for air, whereas the respiratory zones contain the alveoli where gas exchange takes place. Lungs play also the role of a filter for the air we breathe, eliminating particulate matter present in suspension through complex processes. Thanks to their high surface area, the respiratory track is also a target for drug delivery of aerosols and nebulized suspensions.

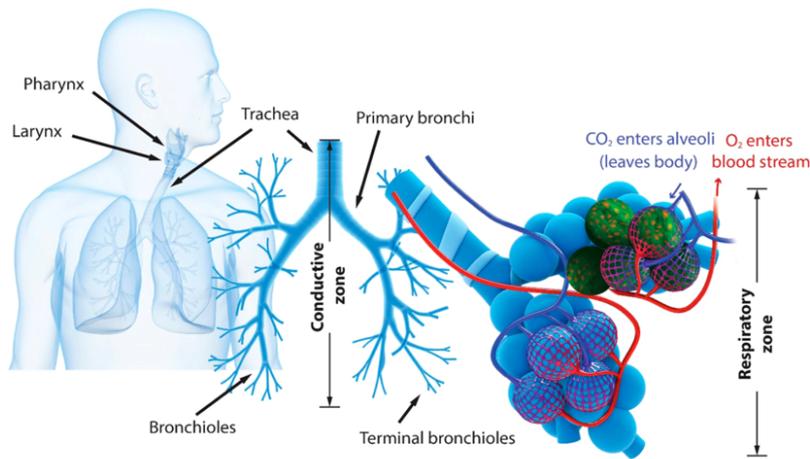


Figure 1: Dichotomy of the human lung. Human lung consists of a fractal structure of bronchioles and grapes like alveolar sacs [1].

In our group at Matière et Systèmes Complexes (University Paris-Diderot), a long-term project aims at understanding the behavior of inhaled particulate matter at the level of the alveoli, either for nanomedicine applications or environment related studies, including toxicity. Alveoli are 200 μm large sacs connected with each other and to air ducts. Their interior is lined up with a fluid called the pulmonary surfactant, which functions are to lower the surface tension with the air and facilitate breathing. The lung surfactant is composed phospholipids and proteins organized into vesicles. In vitro experiments have shown that particulate matter brought in contact with lung surfactant modifies its physical properties, via interaction with the vesicles [2]. In this project we will study the modification of the surfactant phase physical properties by the addition of nano-objects (simulating inhaled particulate matter) known to induce critical phenomena, including vesicular aggregation and alveolar malfunction. Beyond structural studies (done with e-microscopy), emphasis will be put on the measure of surfactant phase viscosity using an original microrheology set-up. The technique, recently published in Nature Communications [3] is based on the monitoring of magnetic nanowires under rotating field.

[1] P. Bajaj, J.F. Harris, J. Huang, P. Nath and R. Iyer, ACS Biomater. Sci. Eng. (2016)

[2] F. Mousseau, E. Seyrek, R. Le Borgne and J.-F. Berret, Langmuir 31 (26) 7346 – 7354 (2015)

[3] J.-F. Berret, Nature Communications 7, 10134 (2016)

Novel nanoprobes for stroke imaging and therapeutics

Supervisor: *Indicate the references of the person who will directly supervise the student's project.*

Name: Jean-François Berret

E-mail: jean-francois.berret@univ-paris-diderot.fr

Phone: 01 57 27 61 47

Affiliation: Laboratory Matière et Systèmes Complexes, Université Paris-Diderot

Host Laboratory: *Indicate the references of the laboratory where the student will work for the project.*

Affiliation: Université Paris-Diderot

Lab Name : Laboratoire Matière et Systèmes Complexes

Address : UMR 7057 Université Paris-Diderot/CNRS, Batiment Condorcet,
10 rue Alice Domon et Léonie Duquet, F-75205 Paris Cedex 13

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : EDPIF Physique / Approches Interdisciplinaires du Vivant (AIV)

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Agence Nationale pour la Recherche

Describe the team that the student will join for the project.

The intern will join a group of 6 researchers, composed of 3 PhD (Fanny Mousseau, Chloé Puisney, Alexandra Lanièce), 2 postdocs (Evdokia Oikonomou, Victor Baldim) and one permanent position (J.-F. Berret, DR CNRS). Our research group develops novel functional nanostructures with stimuli-responsive features. The particles, proteins and biomacromolecules are elementary bricks of colloidal scaffolds designed for applications. Based on techniques of non-covalent assembly, this approach offers versatility and simplicity for the fabrication of novel and functional nanomaterials. A second objective of our research deals with the applications of these nanomaterials in medicine, biology and in environment. It includes their use as tools for imaging and therapy in living cells and tissues, as well as the study of their cyto- and genotoxicity.

Project description

Stroke is a leading cause of death worldwide for which doctors still lack therapeutic strategies. Ischemic stroke, one of the two major types of cerebral accidents results from the occlusion of a vessel in the brain, and it represents 80% of all world wide recorded cases. Modern medicine tries to develop therapeutics that are personalized and adapted to each patient. To this aim, the mechanisms at the origin of the stroke pathophysiology, including perturbation of homeostasis, oxidative stress, inflammation must be studied. One approach consists in using follow-up of biomarkers associated with molecular imaging and therapeutic agents. The goal of our long-term project is to develop innovative nanoprobes for *in vivo* experimentation combining vascular inflammation detection and oxidative stress reduction (Fig. 1).

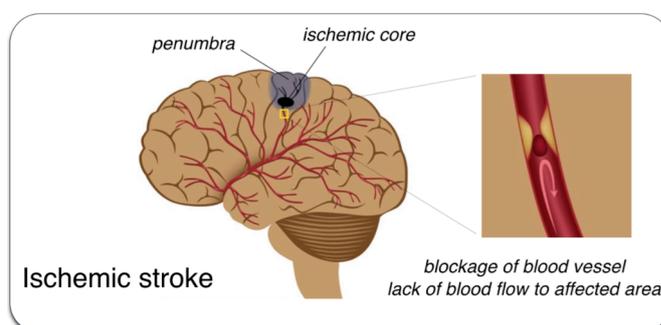


Figure 1 : Representation of ischemic stroke, including the blockage of the blood vessel and the affected areas (ischemic core and penumbra).

The probes targeted in this study are bimodal. They contain an efficient contrast agent for imaging and a healing agent to alleviate the stroke related biological damages. They are to be injected in the blood circulation shortly after the stroke. The contrast agent selected for the study is nanometric iron oxide (5 - 10 nm) which is known to exhibit a strong contrast in Magnetic Resonance Imaging (MRI) [1,2]. The healing agent is cerium oxide. Cerium oxide (CeO₂, 7 nm) has long been developed for industrial applications. More recently, studies have shown that nanoceria present unique antioxidant capacity and protect cells against oxidative stress-related damage [3]. The first part of the project consists in fabricating such multimodal probes following a unique bottom-up assembly technique developed in our group [1,2].

In a second step, the iron/cerium nanostructures will be functionalized using advanced polymers and peptides for targeting the inflamed zones of the brain. Polymers are synthesized by the company Specific Polymers® (www.specificpolymers.fr) with which we have an exclusivity agreement for this study. The polymers contain poly(ethylene glycol) chains known for their bioresistant properties. The peptide used is a sequence of 10 amino acids that spontaneously associate in the blood circulation to cell adhesion molecules (VCAM-1) located at the endothelial cell membrane (Fig. 2). In vitro cellular biology assays will be performed for testing targeting efficiency.

The project is supported by the Agence Nationale de la Recherche, including a 24 month funding of a postdoc position.

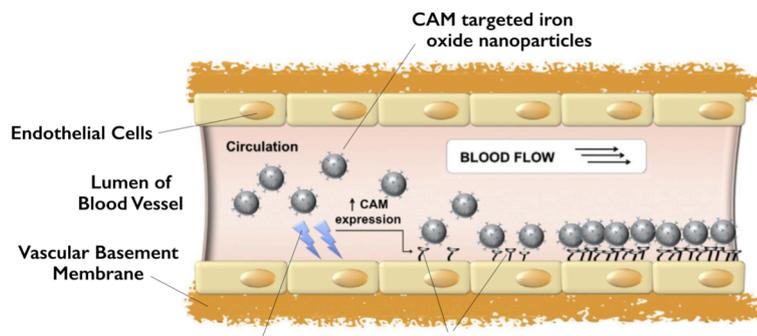


Figure 2: Sequential steps of leukocyte recruitment to injured vascular endothelium at an inflammation site (adapted from [3]). The four steps for leukocytes transmigration through the endothelial cell walls are the tethering, the rolling, the firm adhesion and the transmigration.

[1] V. Torrisi, A. Graillet, L. Vitorazi, Q. Crouzet, G. Marletta, C. Loubat, and J.-F. Berret*, *Biomacromolecules*, 2014, 15 (8), pp 3171–3179

[2] G. Ramniceanu, B.-T. Doan, C. Vezignol, A. Graillet, C. Loubat, N. Mignet* and J.-F. Berret*, *RSC Advances* 6, 63788 – 63800 (2016)

[3] M. Gauberti, A. Montagne, A. Queenault, D. Vivien, *Frontiers in Cellular Neuroscience* 8 389 (2014).

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire :PCC (Physico-chimie Curie), UMR 168

Adresse : 11 rue P. et M. Curie, 75005 Paris

Directeur du laboratoire : Maxime Dahan

Équipe de recherche (si pertinent) : Microscopie Moléculaire des Membranes

Responsable de l'équipe : Daniel Levy

Responsable de stage : Aurélie Bertin

Adresse électronique :aurelie.bertin@curie.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement :ED 515, complexité du vivant

Profil recherché : Bio-physicien(ne), bio-informaticien(ne) intéressé(e) par l'obtention de structures par microscopie électronique

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : financement ANR 3 ans par un contrat qui débute en 01/2017

Titre du stage : Formin conformations during actin filament assembly by cryo-electron microscopy

Résumé :

Formins are key regulators of actin assembly. They promote rapid actin elongation when they are bound to the polymerizing barbed end of actin leading to elongated structures within filopodia or the cytokinetic ring. From microfluidics biophysical assays on single actin filaments (Jegou et al., 2016, nature communication), a model has been proposed which indicates the coexistence of at least two conformations of formins at the end of actin. Two domains of formins are able to bind actin. The FH2 domain is believed to dimerize and encircle actin filaments while the FH1 domain is more flexible. A closed conformation of the FH2 domain would prevent actin elongation while an opened configuration (5 nm away) seems to favor a rapid polymerization of actin.

The purpose of our project (master 2 followed by a thesis) is to determine directly the different assumed conformations of formins bound to actin by cryo-electron microscopy structural studies.

Our purpose is to describe the conformations of formins (1) at the barbed end of actin, (2) throughout depolymerization and (3) alongside actin filaments.

Cryo-EM currently undergoes a resolution revolution that will enable the visualization of such conformational changes. Both the hardware (microscopes and detectors) and software (image processing) now allows the visualization of secondary structures in a physiological environment. We have access to facilities which provide such equipment.

As a first step, the sample preparation conditions will be optimized to guarantee the best possible imaging conditions. Subsequently, data will be collected with our in house microscope using negatively stained samples to get a first model.

Then cryo-EM vitrified samples will be prepared and data will be collected in facilities equipped with the state of the art microscopes.

The project will be carried out in close collaboration with colleagues (G. Romet-lemonne, A. Jegou, Institut Jacques Monod) who will provide the biological material and carry on biophysical assays (microfluidics, magnetic tweezers).

We are looking for candidates with a strong interest in structural biology, a curiosity for Cryo-EM and image processing methods.

PROPOSITION DE STAGE ET DE THÈSE

Laboratoire : Laboratoire Jean Perrin, CNRS & UPMC (Sorbonne Universités), UMR 8237

Adresse : 4 place Jussieu, 75005 Paris, France (Tour 32-33, 5ème étage)

Directeur du laboratoire : Didier Chatenay

Équipe de recherche : Théorie

Responsable de l'équipe : Raphaël Voituriez

Responsable de stage : Anne-Florence Bitbol

Adresse électronique : anne-florence.bitbol@upmc.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED 564, Physique en Île-de-France (PIF)

Profil recherché : Bonnes bases en physique statistique, intérêt pour la biologie et pour les méthodes théoriques et computationnelles (modélisation, simulations)

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : École doctorale

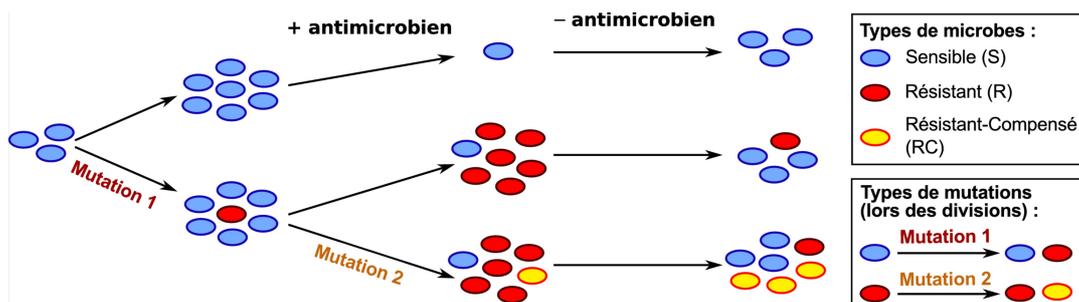
Titre du stage : Évolution de la résistance aux antimicrobiens

Résumé rapide : La résistance aux antimicrobiens est un problème majeur de santé publique. Ce stage propose d'étudier de manière théorique des questions fondamentales liées à l'évolution de la résistance, en prenant en compte la variabilité temporelle du paysage de fitness des microbes (qui représente leur taux de reproduction en fonction de leur génotype). Cette variabilité est due aux variations de concentration en antimicrobien. On mènera une étude quantitative dans le cadre d'un modèle minimal et générique. Les approches, analytiques et numériques, seront basées sur la physique statistique et l'étude des processus stochastiques.

Résumé :

L'utilisation des antibiotiques et le développement des antiviraux ont été d'immenses avancées médicales au vingtième siècle. Cependant, avec l'augmentation de l'utilisation des antimicrobiens, les microbes pathogènes tendent à devenir résistants à ces médicaments, les rendant ainsi inefficaces. Ce phénomène est devenu un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale. On propose ici d'aborder de manière théorique certaines questions fondamentales posées par l'évolution de la résistance aux antimicrobiens.

Les mutations conférant une résistance aux antibiotiques sont souvent associées à un coût de fitness, c'est-à-dire à un ralentissement de la reproduction, chez les bactéries qui les possèdent [1]. Par exemple, l'acquisition de la résistance passe souvent par une modification de la cible moléculaire de l'antibiotique, qui diminue sa sensibilité à l'antibiotique, mais altère sa fonction biologique et la rend moins efficace [2]. Cependant, les bactéries résistantes acquièrent fréquemment des mutations ultérieures qui compensent le coût de fitness initial de la résistance, tout en restant résistantes : elles sont alors dites "résistantes-compensées" [3,4] (cf. figure). Cela rend l'acquisition de la résistance irréversible, même si l'antibiotique est supprimé de l'environnement des bactéries [1,5].



À cause du coût initial de la résistance, le paysage de fitness du microbe, qui représente sa fitness en fonction de son génotype, ou ici du nombre de mutations à partir de l'état initial (sensible à l'antimicrobien), comporte une

vallée de fitness, analogue à une barrière d'énergie potentielle en physique. Cependant, cette vallée, qui existe en l'absence d'antimicrobien, disparaît en présence d'une certaine concentration d'antimicrobien, puisque le microbe sensible à l'antimicrobien a alors une croissance altérée. Le paysage de fitness du microbe dépend donc de façon drastique de la présence ou de l'absence d'antimicrobien. Une population microbienne est susceptible de rencontrer des concentrations en antimicrobiens variables au cours du temps, ce qui provoque une variation de son paysage de fitness. Par exemple, lors d'un traitement, les populations de microbes présentes chez un patient rencontrent des oscillations de la concentration en antimicrobien, dues à la prise périodique des médicaments.

Dans ce stage, on propose d'étudier quantitativement l'effet de la variabilité temporelle du paysage de fitness sur l'évolution de la résistance aux antimicrobiens. Comment les échelles de temps de l'évolution et de la variation du paysage de fitness se couplent-elles ? Quelles sont les conditions qui rendent probables ou peu probables, rapides ou lentes, l'apparition et la dominance des microbes résistants-compensés ?

On abordera ces questions dans le cadre d'un modèle minimal qui se concentrera sur les aspects fondamentaux du problème et permettra une étude quantitative. On modélisera l'action de l'antimicrobien de manière binaire : en-dessous d'une concentration seuil, la croissance et donc la fitness des microbes n'est pas affectée, tandis qu'au-dessus, les microbes sensibles ont une croissance nulle. Il existe alors deux paysages de fitness, qui correspondent à ces deux cas, et qui peuvent être décrits par un seul paramètre dans le cas le plus simple. On étudiera d'abord la limite déterministe des grandes populations de microbes au moyen d'équations différentielles. On s'intéressera ensuite au cas plus réaliste des populations de taille finie au moyen d'outils inspirés de la physique statistique et des phénomènes stochastiques : chaînes de Markov, simulation par un algorithme de Gillespie [6]. Dans ces deux cas, on étudiera d'abord l'impact de la présence d'antimicrobien pendant une durée finie, puis on considérera une présence périodique d'antimicrobien.

Par la suite, on s'intéressera à l'effet de la structure des populations microbiennes sur l'évolution de la résistance aux antimicrobiens. Les populations de microbes sont souvent subdivisées en plusieurs sous-populations, reliées entre elles par des migrations plus ou moins rares. La structure peut avoir un impact considérable sur l'évolution d'une population. La subdivision peut en particulier accélérer le passage de vallées de fitness [7]. En l'absence d'antimicrobiens, l'évolution du génotype résistant-compensé demande le passage d'une vallée de fitness. On étudiera si la subdivision peut, dans certains régimes, accélérer l'apparition et/ou la fixation dans toute la population du génotype résistant-compensé, par exemple en permettant de maintenir des "refuges" de microbes de génotype résistant en l'absence d'antimicrobien, malgré leur fitness alors plus faible que celle des microbes sensibles aux antimicrobiens.

Références :

- [1] D. I. Andersson and D. Hughes. *Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance?* Nat. Rev. Microbiol., 8:260–271, 2010.
- [2] D. I. Andersson and B. R. Levin. *The biological cost of antibiotic resistance.* Curr. Opin. Microbiol., 2(5):489–493, Oct 1999.
- [3] S. J. Schrag and V. Perrot. *Reducing antibiotic resistance in E. coli.* Nature, 381:120–121, 1996.
- [4] B. R. Levin, V. Perrot, and N. Walker. *Compensatory mutations, antibiotic resistance and the population genetics of adaptive evolution in bacteria.* Genetics, 154(3):985–997, Mar 2000.
- [5] S. J. Schrag, V. Perrot, and B. R. Levin. *Adaptation to the fitness cost of antibiotic resistance in E. coli.* Proc. R. Soc. Lond. B, 264:1287–1291, 1997.
- [6] D. T. Gillespie. *A general method for numerically simulating the stochastic time evolution of coupled chemical reactions.* J. Comput. Phys., 22:403–434, 1976.
- [7] **A. F. Bitbol** and D. J. Schwab. *Quantifying the role of population subdivision in evolution on rugged fitness landscapes.* PLoS Comput. Biol., 10(8):e1003778, Aug 2014.

PROPOSITION DE STAGE ET DE THÈSE

Laboratoire : Laboratoire Jean Perrin, CNRS & UPMC (Sorbonne Universités), UMR 8237

Adresse : 4 place Jussieu, 75005 Paris, France (Tour 32-33, 5ème étage)

Directeur du laboratoire : Didier Chatenay

Équipe de recherche : Théorie

Responsable de l'équipe : Raphaël Voituriez

Responsable de stage : Anne-Florence Bitbol

Adresse électronique : anne-florence.bitbol@upmc.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED 564, Physique en Île-de-France (PIF)

Profil recherché : Bonnes bases en physique statistique, intérêt pour la biologie et pour les méthodes théoriques et computationnelles (modélisation, analyse de données)

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : École doctorale

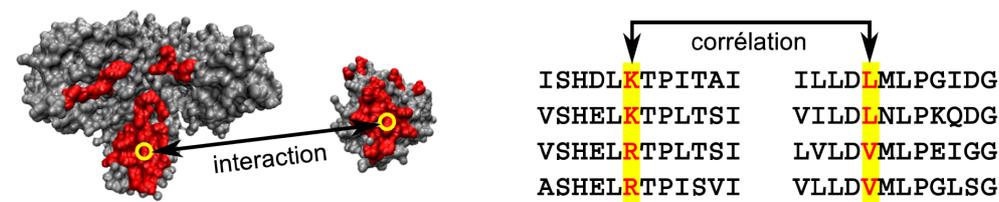
Titre du stage : Interactions à deux corps dans les protéines

Résumé rapide : Ces dernières années, de nouvelles méthodes d'étude des protéines ont été développées avec succès pour déterminer la structure tri-dimensionnelle des protéines et leurs interactions uniquement à partir de leurs séquences. Ces méthodes ne font intervenir que des interactions effectives à deux corps entre acides aminés. Le succès de tels modèles signifie-t-il que les interactions physico-chimiques à deux corps entre acides aminés sont suffisantes pour décrire les protéines ?

Résumé :

Les protéines jouent des rôles cruciaux dans toutes les cellules vivantes, par exemple comme moteurs moléculaires, enzymes, ou composants de réseaux de signalisation. La connaissance de leur structure tridimensionnelle et de leurs interactions est cruciale pour comprendre le fonctionnement des cellules et pour pouvoir le modifier, par exemple via des médicaments ciblés. De nombreuses méthodes expérimentales ont été, et sont toujours, élaborées pour cela, mais leur application à grande échelle reste encore limitée. Cependant, les avancées techniques du séquençage mènent à une augmentation rapide de la quantité de séquences protéiques connues.

Ces dernières années, de nouvelles méthodes d'étude des protéines ont été développées avec succès pour déterminer la structure tri-dimensionnelle des protéines et leurs interactions uniquement à partir des séquences [1-6]. Ces méthodes exploitent les corrélations entre acides aminés. Deux acides aminés qui interagissent doivent être complémentaires au niveau physico-chimique. Par conséquent, si une mutation affecte l'un d'entre eux, c'est généralement délétère pour l'interaction, à moins qu'une mutation complémentaire n'affecte le second acide aminé. À cause de ces contraintes évolutives, dans un alignement de séquences de protéines homologues, les acides aminés en interaction sont corrélés (cf. figure).



En utilisant des méthodes d'inférence statistique, on peut remonter aux interactions à partir des corrélations observées. Mais les méthodes d'inférence utilisées actuellement ne prennent en compte que les corrélations et les interactions à deux corps entre acides aminés, essentiellement à cause de contraintes pratiques. En particulier, l'inférence basée sur le principe d'entropie maximale [7] et la cohérence avec les corrélations à deux corps donne des interactions à deux corps correspondant à un modèle de Potts. Le succès de ces modèles signifie-t-il que les interactions physico-chimiques à deux corps entre acides aminés sont suffisantes pour décrire les protéines ?

Dans ces modèles, les couplages entre acides aminés, du type $J_{ij}(a_i, a_j)$, où i et j désignent des sites sur la séquences et les a_i représentent les types d'acides aminés, sont traités comme des degrés de liberté indépendants (une fois les symétries du système imposées). Cependant, si les interactions entre acides aminés étaient de simples interactions physico-chimiques à deux corps, elles ne devraient dépendre que du type d'acides aminés et de la distance entre eux, autrement dit $J_{ij}(a_i, a_j) = U(a_i, a_j, d)$. En particulier, deux acides aminés donnés situés à la même distance dans la structure tridimensionnelle devraient présenter le même couplage.

Dans ce stage, on propose de tester cette hypothèse en étudiant les couplages inférés sur des données réelles (séquences et structures de protéines). Les résultats obtenus seront comparés à la matrice de couplage de Miyazawa et Jernigan [8] et éventuellement aux interactions physico-chimiques calculées par des programmes de dynamique moléculaire. On étudiera l'erreur faite par une approche où seules des interactions de type $U(a_i, a_j, d)$ sont prises en compte. Si ces interactions sont suffisantes, cela pourrait mener à une grande simplification des modèles actuels, permettant de les étendre aux familles de protéines comportant de moins nombreuses séquences. Si elles ne le sont pas, on s'attachera à déterminer quels sont les autres ingrédients importants. Une première hypothèse serait l'importance des acides aminés voisins sur l'interaction effective entre deux acides aminés.

De nombreux développements seront possibles par la suite, en particulier dans le prolongement de la méthode de détermination des interactions entre protéines à partir des séquences présentée dans la référence [5]. Ces développements incluent à la fois des applications et des aspects théoriques.

Références :

- [1] Weigt M, White RA, Szurmant H, Hoch JA, Hwa T (2009) *Identification of direct residue contacts in protein-protein interaction by message passing*. Proc Natl Acad Sci USA 106(1):67-72.
- [2] Marks DS, Colwell LJ, Sheridan R, Hopf TA, Pagnani A, Zecchina R, Sander C (2011) *Protein 3D structure computed from evolutionary sequence variation*. PLOS One 6(12):e28766.
- [3] Sułkowska JI, Morcos F, Weigt M, Hwa T, Onuchic JN (2012) *Genomics-aided structure prediction*. Proc Natl Acad Sci USA 109(26):10340-10345.
- [4] Jacquin H, Gilson A, Shakhnovich E, Cocco S, Monasson R (2016) *Benchmarking inverse statistical approaches for protein structure and design with exactly solvable models*. PLOS Comput Biol 12(5):e1004889.
- [5] **Bitbol A-F**, Dwyer RS, Colwell LJ and Wingreen NS (2016) *Inferring interaction partners from protein sequences*, Proc Natl Acad Sci USA, DOI: 10.1073/pnas.1606762113.
- [6] Gueudré T, Baldassi C, Zamparo M, Weigt M, Pagnani A (2016) *Simultaneous identification of specifically interacting paralogs and inter-protein contacts by Direct-Coupling Analysis*, arXiv:1605.03745
- [7] Jaynes ET (1957) *Information theory and statistical mechanics*. Phys Rev 106(4): 620-630.
- [8] Miyazawa S and Jernigan RL (1985) *Estimation of Effective Interresidue Contact Energies from Protein Crystal Structures: Quasi-Chemical Approximation*, Macromolecules, 18, 534-552.

« PROPOSITION DE STAGE ET DE THESE »

Laboratoire : Nanobiophysique, ESPCI ParisTech

Adresse : 10 rue Vauquelin, 75005 Paris

Responsable de stage : Thierry Bizebard and Ulrich Bockelmann

Email : ulrich.bockelmann@espci.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED PIF, Physique Ile de France

Profil recherché : Interface physique biologie, expérimental

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : oui

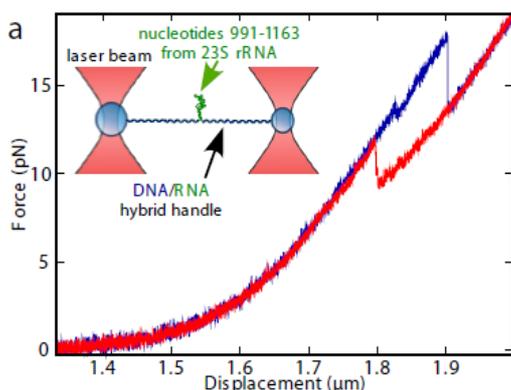
Titre du stage : RNA/protein interactions in ribosome assembly studied by force measurements

Résumé :

The ribosome is an RNA-protein complex that performs protein synthesis in all organisms. The large subunit of the *E. coli* ribosome results from the assembly of two rRNA species and 34 r-proteins. The assembly is highly cooperative in vivo and in vitro and the molecular basis of the cooperativity is largely unknown.

We use single molecule force measurements to address the molecular mechanism of the cooperativity in ribosome assembly. A typical experimental configuration is shown below. An rRNA molecule is linked to two DNA/RNA handles that are fixed to two functionalized beads. The beads are manipulated with a dual optical trap. Pulling the molecular construct induces the unfolding of the rRNA. The force is measured continuously during the experiment. We will study the binding of a few r-proteins and helicases to selected fragments of the rRNA.

The internship student will participate in ongoing research using the described approach. The research will shed new light on the process of ribosome assembly. It is performed in collaboration with the University of Tokyo, the Charité Hospital Berlin and the VU Amsterdam and financially supported by the Human Frontier Science Foundation.



Inset: Schematic view of a typical measurement configuration. An RNA fragment is linked to two beads via RNA/DNA handles.

Main: Two curves have been measured in the presence (blue) or absence (red) of the protein L20C. L20C binds tightly to the RNA fragment. As a result, the force needed to unfold the RNA fragment is higher in the presence of L20C than in its absence.

Laboratoires : Institut Curie, dans l'unité Physico Chimie Curie composée traditionnellement de physiciens

Adresses : Physico Chimie Curie – UMR 168 - Institut Curie : 11-13 rue Pierre et Marie Curie, 75 005 Paris

Directeur du laboratoire : Maxime Dahan

Équipe de recherche : Physico-Biologie aux Méso-échelles

Responsable de l'équipe : Pascal Silberzan - **Responsable de stage :** Isabelle Bonnet

Adresse électronique : isabelle.bonnet@curie.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED 564 – Physique Ile de France « PIF »

Profil recherché : physicien(ne) expérimentaliste intéressé(e) par l'interface biologie/physique

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Concours des écoles doctorales et LabEx

Titre du stage : **Collective extrusion triggered by a light-inducible oncogene.**

Mots-clefs: *epithelial tissue, competition between normal and cancer cells, cell extrusion*

Résumé:

To preserve their function, epithelial tissues must eliminate cells that undergo mutations. For example, tumour cells present in a healthy tissue compete for space with the non-cancer cells. This competition results in the development of the tumour or its regression if the healthy tissue can overcome this threat by extruding the transformed cells.

Our research aims at deciphering the principles that govern the competition between cancer cells and their neighbouring normal cells in an epithelium. We focus on Src oncogene that is found to be over-expressed in many human cancers. Increased Src activity appears to be associated with tumour promotion by favouring metastasis dissemination.

Our model system is a monolayer of cultured MDCK cells. Our strategy consists in a precise tuning of pattern of mutation using a light-inducible Src. MDCKSrc cells express Src oncogene when they are exposed to blue light. It is therefore possible to spatially select a subset of cells to transform within a normal tissue using patterned light. In our first experiments, we have observed that an area of light-activated cells collectively extrude from the monolayer, giving rise to a budding 3D structure

This interdisciplinary project, aims at studying the mechanical aspects of this budding in order to understand how the Src oncogenic mutation induces such a collective behaviour. To that end, we will measure forces at the interface between the two cell-types (Monolayer Stress Microscopy) in relation with the initial conditions (cell density, transformation/light pattern), the mechanical environment (such as substrate rigidity) and the distribution of adhesion molecules.

Outils: *cell culture, microscopy, micro-fabrication, Optogenetics, microfluidics, image analysis*

Références

4. Duclos G, Erenkämper C, Joanny J-F. & Silberzan P.
Nature Physics (2016)

3. Wagstaff L, Goschorska M, Kozyriska K, Duclos G, Kucinski I, Chessel A, Hampton-O'Neil L, Bradshaw CR, Allen GE, Rawlins EL, Silberzan P, Carazo Salas RE and Piddini E.
Nat Commun. (2016)

2. Bosveld F, Guirao B, Wang Z, Riviere M, Bonnet I, Graner F and Bellaiche Y.
Development (2016)

1. Yevick HG, Duclos G, Bonnet I and Silberzan P.
Proc Natl Acad Sci U S A. (2015)

« PROPOSITION DE STAGE ET DE THESE »

Laboratoire : Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM UMR 5247)

Adresse : 301 Rue Baruch de Spinoza, Campus JH Fabre, Université d'Avignon

Directeur du laboratoire : Pascal Dumy

Équipe de recherche (si pertinent) : Chimie Biorganique et systèmes amphiphiles CBSA

Responsable de l'équipe : Grégory Durand

Responsable de stage : Françoise Bonneté

Adresse électronique : francoise.bonnete@univ-avignon.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED 536

Profil recherché : Biochimiste structuraliste ou physico chimiste

Le candidat devra faire preuve d'intérêt pour les techniques de physico-chimie et de biophysique (diffusion de la lumière, tension de surface, diffusion des rayons X ou neutrons aux petits angles) ainsi que d'une ouverture vers les techniques de modélisation moléculaire et de simulation numérique. L'anglais scientifique devra être maîtrisé.

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Région PACA

Titre du stage et de la thèse : Modélisation moléculaire des interactions protéines/amphiphiles pour la compréhension des mécanismes de stabilisation et de cristallisation de protéines membranaires

Résumé :

Les protéines membranaires (PMs) jouent un rôle fondamental en biologie où elles effectuent un large éventail de fonctions cellulaires. Elles sont également impliquées dans un grand nombre de maladies génétiques et sont ainsi des cibles pour les molécules pharmaceutiques. Malgré leur importance dans ces processus biologiques et pathologiques, notre connaissance de leur structure à l'échelle atomique et le détail de leur mécanisme moléculaire reste limitée car liée à des difficultés propres à l'étude de ces protéines (expression, solubilisation, stabilisation, cristallisation en milieu amphiphile). En effet, pour être étudiées *in vitro*, les PMs doivent être extraites de la membrane lipidique et solubilisées en utilisant des détergents (tensio-actifs lipophiles), les rendant ainsi solubles et manipulables. Cependant l'utilisation de détergents induit souvent une perte d'activité et de stabilité des PMs lors des étapes de purification et de cristallisation rendant leur étude structurale difficile. Au cours des dernières décennies, la caractérisation des PMs comme cibles thérapeutiques (vaccins, anticorps, médicaments) est devenue un défi biologique majeur pour les industries pharmaceutiques, le nombre de molécules amphiphiles permettant à la fois l'extraction et l'étude des PMs dans un état natif fonctionnel étant très limité.

Notre équipe (IBMM/CBSA) développe depuis de nombreuses années des tensioactifs à structure originale (chaîne fluorée, cyclique, polymère amphiphile) possédant d'excellentes propriétés de stabilisation des protéines membranaires sans dénaturation [1-5]. Leur capacité biochimique à stabiliser des PMs d'intérêt a été décrite mais la conformation structurale qu'elles adoptent autour des protéines membranaires pour la cristallisation et leur influence sur le maintien de la structure 3D native des PMs n'ont pas encore été étudiées.

Nos savoir-faire en chimie bioorganique, en physico-chimie et en biochimie structurale ont été récemment valorisés par la création en avril 2015 d'un laboratoire commun (ANR LabCom) unique au monde - **Chem2staB**¹ - associant notre laboratoire CBSA à la société **CALIXAR** (Lyon). L'objectif principal de Chem2staB est de développer et de valoriser de nouvelles molécules amphiphiles capables d'extraire, de stabiliser et/ou de cristalliser des cibles thérapeutiques et des antigènes (protéines membranaires principalement) sans les dénaturer. Le projet repose donc sur des approches pluridisciplinaires, associant biochimie structurale, techniques physico-chimiques et cristallogénèse, et vise à étudier l'influence de nouvelles molécules amphiphiles sur la solubilisation, la stabilisation et la cristallisation de différentes classes de protéines membranaires pouvant conduire à terme à une véritable avancée de la biologie structurale mais aussi de la chimie thérapeutique.



web

¹ <http://www.univ-avignon.fr/fr/actualites/singleview/article/7/calixar-laboratoire-commun.html>

Descriptif du stage et du projet de thèse :

Nous proposons, en sélectionnant quelques tensio-actifs pertinents commerciaux et synthétisés au sein du labcom d'utiliser les techniques de chromatographie d'exclusion stérique couplée soit à une diffusion de lumière (SEC-MALS), soit à une diffusion des rayons X aux petits angles sur ligne synchrotron (SEC-SAXS), pour modéliser les interactions PMS-tensio-actifs permettant l'obtention de cristaux diffractant à haute résolution.

Nous utiliserons les résultats préliminaires obtenus avec le transporteur ShuA étudié en condition cristallisante pour étendre ce travail à d'autres PMs d'intérêt biologique ou thérapeutique: par exemple un canal à protons M2 du virus de la grippe [7, 8] et un récepteur à adénosine A2A, dont la structure 3D de type sauvage n'a pas encore été résolu, mais dont les structures tronquées (y compris de mutants) sont disponibles.

Méthodes : La préparation de ces différents systèmes biologiques est déjà bien maîtrisée par nos partenaires (K Brillet et Société Calixar à Lyon) et leur étude a déjà été initiée dans le cadre de projets financés (Projet UAPV Exc2015 et Projet LabCom M2 2016). Biochimie (solubilisation/stabilisation, purification et caractérisation fonctionnelle), Physico-chimie (DLS, tension de surface) ; Chromatographie couplée diffusion de lumière ou SAXS (synchrotron) ; modélisation moléculaire ; Cristallogénèse-cristallographie

Contrat / Partenariat : Laboratoire commun CBSA-Calixar « Chem2staB » (ANR-14-LAB7-0002) ; Karl Brillet (IBCP Lyon) ; Javier Perez (SOLEIL, Gif sur Yvette)

Références :

1. Polidori, A., et al., *Sparingly fluorinated maltoside-based surfactants for membrane-protein stabilization*. New J Chem, 2016. **40**: p. 5364-5378.
2. Legrand, F., et al., *Hybrid Fluorinated and Hydrogenated Double-Chain Surfactants for Handling Membrane Proteins*. Journal of Organic Chemistry, 2016. **81**(2): p. 681-688.
3. Abia, M., et al., *Micellar and biochemical properties of a propyl-ended fluorinated surfactant designed for membrane-protein study*. Journal of Colloid and Interface Science, 2015. **445**: p. 127-136.
4. Sharma, K.S., et al., *Non-Ionic Amphiphilic Homopolymers: Synthesis, Solution Properties, and Biochemical Validation*. Langmuir, 2012. **28**(10): p. 4625-4639.
5. Hovers, J., et al., *A class of mild surfactants that keep integral membrane proteins water-soluble for functional studies and crystallization*. Molecular Membrane Biology, 2011. **28**(3): p. 171-181.
6. Brillet, K., et al., *Expression, purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of the TonB-dependent haem outer membrane transporter ShuA from Shigella dysenteriae*. Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications, 2009. **65**(Pt 4): p. 402-405.
7. Schnell, J.R. and J.J. Chou, *Structure and mechanism of the M2 proton channel of influenza A virus*. (1476-4687 (Electronic)).
8. Sharma, M., et al., *Insight into the mechanism of the influenza A proton channel from a structure in a lipid bilayer*. 2010(1095-9203 (Electronic)).
9. Xu, F., et al., *Structure of an agonist-bound human A2A adenosine receptor*. Science, 2011. **332**(6027): p. 322-7.
10. Jaakola, V.P., et al., *The 2.6 angstrom crystal structure of a human A2A adenosine receptor bound to an antagonist*. Science, 2008. **322**(5905): p. 1211-7.
11. Abia, M., et al., *A diglucosylated fluorinated surfactant to handle integral membrane proteins in aqueous solution*. Journal of Fluorine Chemistry, 2012. **134**: p. 63-71.
12. Matar-Merheb, R., et al., *Structuring Detergents for Extracting and Stabilizing Functional Membrane Proteins*. PLoS ONE, 2011. **6**(3): p. e18036.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Institut Jacques Monod

Adresse : 15 rue Hélène Brion, 75205 Paris Cedex 13

Directeur du laboratoire : Giuseppe Baldacci

Équipe de recherche (si pertinent) : Mechanotransduction: from cell surface to nucleus

Responsable de l'équipe : Nicolas Borghi

Responsable de stage : Nicolas Borghi

Adresse électronique : nicolas.borghi@ijm.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED157 Gc2iD (BioSPC), ED474 FdV

Profil recherché : physicien, biologiste, biochimiste, biophysicien, physico-chimiste

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : école doctorale ou fondations (FRM, ARC, Boehringer...)

Titre du stage : Mechanotransduction: from cell surface to nucleus

Résumé :

In multicellular organisms, cells generate and undergo mechanical forces that propagate through tissues. These forces may shape cells, tissues and organs, but also regulate genetic programs (Borghi et al 2016). We seek to elucidate the intimate mechanisms of the macromolecular complexes that transmit and transduce these mechanical cues within and between cells, and the cell functions affected by these cues.

To address this goal, we use and develop genetically encoded biosensors and advanced microscopy and micromanipulation tools (FRET, FLIM, FCS/FCCS, SPIM, super-resolution, single-molecule, optical and magnetic tweezers, laser ablation), on cell culture and small organisms model systems. These combinations allow to control and measure dynamically and quantitatively the behavior of protein complexes and cells in a wide range of time and length scales.

We are currently interested in the molecular mechanisms of mechanotransduction through cadherin-based cell-cell adhesion complexes (Borghi et al 2012, Lowndes et al 2014), Focal Adhesions (Liu et al 2016), and the nuclear envelope LINC complexes, for which we have developed a novel methodology to measure molecular tensions in live cells (Gayrard & Borghi 2016). Leveraging this tool, the topic of the internship may address – mechanotransduction through any of these complexes and its link with gene expression, - the mechanical crosstalk between these complexes, or – the relationship between cell-scale and molecular scale forces.

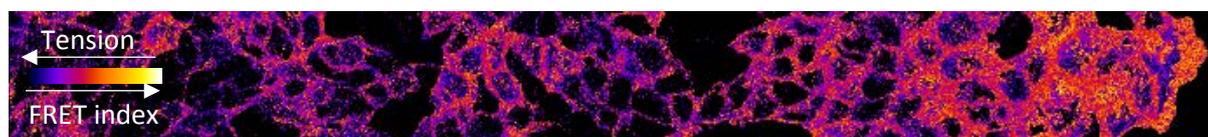


Fig: Map of molecular tension on E-cadherins in a migrating epithelial monolayer

1. Liu Z, Bun P, Audugé A, Coppey-Moisan M, [Borghi N](#). Vinculin head-tail interaction defines multiple early mechanisms for cell substrate rigidity sensing. *Integr Biol.* 2016;8:693-703.
2. [Borghi N](#), Farge E, Lavelle C. Experimental approaches in mechanotransduction: From molecules to pathology. *Methods.* 2016;94:1-3.
3. Gayrard C, [Borghi N](#). FRET-based Molecular Tension Microscopy, *Methods.* 2016; 94:33-42.
4. Lowndes M, Rakshit S, Shafraz O, [Borghi N](#), Harmon RM, Green KJ, Sivasankar S, Nelson WJ. Different roles of cadherins in the assembly and structural integrity of the desmosome complex, *J. Cell Sci.* 2014; 127:2339-50.
5. [Borghi N](#), Sorokina M, Shcherbakova OG, Weis WI, Pruitt BL, Nelson WJ, Dunn AR. E-cadherin is under constitutive actomyosin-generated tension that is increased at cell-cell contacts upon externally applied stretch, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012; 109:12568-73

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Unité "Structure et Instabilité des Génomes", CNRS UMR 7196 - INSERM U1154, Département "Régulations, Développement et Diversité Moléculaire", Muséum National d'Histoire Naturelle

Adresse : 43 rue Cuvier, BP 26, 75231 Paris cedex 05

Directeur du laboratoire : Prof. Jean-François RIOU

Équipe de recherche (si pertinent) : Equipe "ADN Répété, Chromatine, Evolution"

Responsable de l'équipe : Dr. Christophe ESCUDÉ

Responsable de stage : Alexandre BOUTORINE, Professeur du Muséum

Adresse électronique : alexandre.boutorine@mnhn.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : Ecole doctorale du Muséum National d'Histoire Naturelle «Sciences de la Nature et de l'Homme» (ED 227)

Profil recherché : Biophysique, chimie bioorganique, biologie moléculaire

Possibilité de poursuite en thèse : \emptyset - **NON**

Si oui financement envisagé :

Titre du stage : Synthèse et étude physico-chimique de nouvelles sondes fluorescentes pour l'imagerie de l'ADN dans des cellules fixées et vivantes.

Résumé : L'organisation nucléaire participe au contrôle de l'expression génique. Certaines séquences répétées d'ADN, comme les séquences centromériques, péricentromériques ou télomériques, occupent des territoires définis dans le noyau. La possibilité de visualiser ces séquences dans des cellules vivantes, en utilisant la microscopie de fluorescence, permettrait d'observer la dynamique du noyau en temps réel. Cette visualisation ne peut pas être réalisée par les techniques classiques d'hybridation de fluorescence in situ qui nécessitent la fixation des échantillons, la perméabilisation des cellules et la dénaturation de l'ADN.

Récemment, nous avons développé de nouvelles sondes basées sur des polyamides - ligands du petit sillon de l'ADN. Ils sont composés de dérivés de N-méthylpyrroles et N-méthylimidazoles et reconnaissent spécifiquement des séquences d'ADN natif en interagissant au sein de son petit sillon. Nous avons étudié l'interaction des polyamides avec leurs cibles par des méthodes physico-chimiques et effectué leur couplage à des fluorophores commerciaux et synthétiques (1). Finalement, nous avons sélectionné deux sondes capables de visualiser les séquences répétées péricentromériques dans des cellules murines vivantes (2).

Malgré des résultats prometteurs, quelques problèmes majeurs sont à souligner : l'affinité des sondes diminue 10 à 20 fois après leur couplage aux fluorophores et la plupart des sondes s'agrège autour du noyau dans les cellules murines vivantes. En ce qui concerne des cellules humaines, la spécificité de polyamides classiques est trop faible, un marquage uniforme de chromosomes a été observé dans des cellules vivantes. En effet, les règles structurales de construction optimale de sondes de polyamides ne sont pas encore élucidées. De plus, un problème d'instabilité de fluorophores ("bleaching") sous les conditions d'observation a été constaté.

Pendant cette dernière année, les tentatives d'amélioration des structures de polyamides et de fluorophores ont été multiples. Le groupe japonais de H. Sugiyama a proposé des tandems (dimères et trimères) de polyamides (3), ainsi que des polyamides allongés avec les synthons non-standards (4) afin d'augmenter la spécificité de polyamides. Des nouveaux fluorophores, plus stables et plus sensibles à l'environnement, sont synthétisés par nos collègues à Nice (5). Ils changent sont spectre de fluorescence au cours de l'interaction avec l'ADN, ce qui facilite leur détection.

Le but de ce projet est donc d'optimiser la méthode de synthèse, la structure et les propriétés des nouvelles sondes afin d'observer l'ADN dans des cellules vivantes. Au niveau de la structure, nous allons synthétiser des polyamides allongés et leurs tandems (dimères et trimères) mais en utilisant une nouvelle technique de conjugaison qui simplifie la synthèse : "la chimie click" dans un réacteur à micro-ondes. Des nouveaux fluorophores de type 3-hydroxychromone (collaboration avec l'Université de Nice) et BODIPY (commerciaux) seront utilisés pour la marquage de sondes. Les essais physico-chimiques seront utilisées pour l'études de leur interaction avec l'ADN cible modèle (un fragment synthétique d'une répétition centromérique murine ou humaine) *in vitro*. Au cas de succès, les premières études de leur interaction avec l'ADN directement dans des cellules vivantes seront effectuées.

Méthodologies utilisées : synthèse organique et bioorganique, spectroscopie de masse, HPLC, spectroscopies d'absorption et de fluorescente, dénaturation thermique de complexes "ADN-sondes", dichroïsme circulaire,

électrophorèse en gel d'acrylamide (gel retard) avec l'analyse numérique de gels et autres méthodes bioorganiques et biophysiques.

1. Nozeret, K., Bonan, M., Yarmoluk, S.M., Novopashina, D.S. and Boutorine, A.S. (2015) Synthesis of mouse centromere-targeted polyamides and physico-chemical studies of their interaction with the target double-stranded DNA. *Bioorg. Med. Chem.*, **23**, 5932-5945.
2. Nozeret, K., Loll, F., Escudé, C. and Boutorine, A.S. (2015) Polyamide Fluorescent Probes for Visualization of Repeated DNA Sequences in Living Cells. *Chembiochem*, **16**, 549-554.
3. Kawamoto, Y., Sasaki, A., Hashiya, K., Ide, S., Bando, T., Maeshima, K. and Sugiyama, H. (2015) Tandem trimer pyrrole-imidazole polyamide probes targeting 18 base pairs in human telomere sequences. *Chem. Sci.*, **6**, 2307-2312.
4. Sawatani, Y., Kashiwazaki, G., Chandran, A., Asamitsu, S., Guo, C., Sato, S., Hashiya, K., Bando, T. and Sugiyama, H. (2016) Sequence-specific DNA binding by long hairpin pyrrole–imidazole polyamides containing an 8-amino-3,6-dioxaoctanoic acid unit. *Bioorg. Med. Chem.*,
5. Barthes, N.P.F., Gavvala, K., Dziuba, D., Bonhomme, D., Karpenko, I.A., Dabert-Gay, A.S., Debayle, D., Demchenko, A.P., Benhida, R., Michel, B.Y. et al. (2016) Dual emissive analogue of deoxyuridine as a sensitive hydration-reporting probe for discriminating mismatched from matched DNA and DNA/DNA from DNA/RNA duplexes. *J. Mat. Chem. C*, **4**, 3010-3017.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Institut de Génétique et Développement de Rennes (IGDR)

Adresse : Faculté de Médecine, Campus santé de Villejean, 2 avenue du Professeur Léon Bernard, CS 34317, 35043 Rennes Cedex

Directeur du laboratoire : Claude Prigent (jusqu'au 31/12/2016) – Reynald Gillet (à partir du 1/1/2017)

Équipe de recherche (si pertinent) : Une ingénierie inverse de la division cellulaire (CeDRE)

Responsable de l'équipe : Jacques Pécréaux

Responsable de stage : Hélène Bouvrais

Adresse électronique : helene.bouvrais@univ-rennes1.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : Ecole doctorale VAS : Vie - Agro – Santé (Université de Rennes 1)

Profil recherché : Biologiste ou biophysicien avec expérience/formation en biologie cellulaire et moléculaire et quelques notions de base en microscopie

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Aucun pour le moment : l'étudiant sera accompagné dans la recherche de bourses

Titre du stage : Régulation et fidélité du positionnement du fuseau mitotique chez le nématode *C. elegans*

Résumé :

Ce projet vise à comprendre le rôle clé des microtubules astraux dans le bon positionnement du fuseau mitotique au cours de la mitose en utilisant le nématode *C. elegans* comme organisme modèle. Il sera réalisé dans l'équipe « une ingénierie inverse de la division cellulaire » à l'IGDR, qui est composée de scientifiques avec des expertises complémentaires en biologie, physique, mathématiques, statistique et analyse d'images.

Motivation du projet de recherche :

Lors des divisions cellulaires, le positionnement correct du fuseau mitotique est essentiel, car il conditionne le plan de division et, dans le cas des divisions asymétriques, la prescription correcte du destin des cellules filles. Nous utilisons un organisme modèle bien établi de la division asymétrique : l'embryon unicellulaire de *C. elegans*. Lors de sa division, trois phases de positionnement du fuseau doivent être distinguées : (1) en prophase, le complexe formé par les pronucléi et les centrosomes migre vers le centre de la cellule ; (2) de la fin de la prophase à la métaphase, le fuseau est maintenu au centre de la cellule ; (3) en anaphase, le fuseau mitotique migre vers le côté postérieur de la cellule pour atteindre sa position finale. Le fait que chaque phase soit bien distincte dans l'espace et dans le temps pourrait suggérer des points de passage régulés, qui permettent à la cellule de réaliser une correction en cas d'erreurs. Nous formons l'hypothèse que le réseau de microtubules, de par sa dynamique, est approprié pour cette tâche. Ces microtubules sont des filaments semi-rigides et très dynamiques, perpétuellement en train de s'allonger ou de se raccourcir par polymérisation/dépolymérisation, qui génèrent et transmettent des forces. La capacité des cellules cancéreuses à se diviser malgré la présence de nombreuses aberrations suggère la présence de mécanismes de robustesse et d'adaptabilité vis à vis de perturbations, qui restent à découvrir. Une telle robustesse ne dépendrait pas d'un seul acteur moléculaire, mais émergerait des effets collectifs entre les microtubules, leurs régulateurs et les moteurs moléculaires associés.

Objectif du stage:

Le candidat choisi étudiera la régulation dans le temps et dans l'espace des propriétés mécaniques et dynamiques des microtubules astraux, afin de comprendre la modulation des forces transmises au fuseau mitotique. Cette étude se fera à partir de méthodes récemment établies dans l'équipe : nous mesurerons et cartographierons spatialement la dynamique des microtubules astraux par microscopie optique (vitesses de croissance et décroissance de ces filaments dans le plan médian, leurs temps de résidence au niveau du cortex cellulaire). Nous souhaitons également mesurer à l'aide d'un outil en cours de développement la rigidité des microtubules. Le rôle régulateur de certaines MAPs (Microtubule Associated Proteins) sera étudié par une approche gène candidat (ARN interférent ou mutants). Ces résultats seront intégrés dans les modèles physiques et les simulations numériques de la division cellulaire produits par l'équipe.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoires :

Le stage s'effectuera dans le cadre d'une collaboration interdisciplinaire entre :

- Marie Breau, biologiste (Institut de Biologie Paris Seine - IBPS, Laboratoire de Biologie du Développement - UMR7622)
- Isabelle Bonnet, physicienne (Institut Curie, Physico Chimie Curie - UMR168)

Adresses :

IBPS - UMR7622 : 9 Quai Saint-Bernard, Bât C 7ème étage, 75252 Paris Cedex 05

Institut Curie - UMR168 : 11-13 Rue Pierre et Marie Curie 75 005 Paris

Directeur sdu laboratoire : Sylvie Schneider-Maunoury (IBPS) ; Pascal Silberzan (Institut Curie)

Équipes de recherche :

Morphogenèse du cerveau des vertébrés (IBPS) ; Physico-Biologie aux mésoéchelles (Institut Curie)

Responsables de l'équipe : Sylvie Schneider-Maunoury (IBPS) et Pascal Silberzan (Institut Curie)

Responsables de stage : Marie Breau (IBPS) et Isabelle Bonnet (Institut Curie)

Adresses électroniques :

marie.breau@upmc.fr ; isabelle.bonnet@curie.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :

ED 515 - Complexité du Vivant ; ED 474 - Frontières du Vivant

Profil recherché : physicien(ne) expérimentaliste intéressé(e) par l'interface biologie/physique

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Concours des écoles doctorales et demande ANRJC fin 2016

Titre du stage : *Deciphering the role of mechanical forces in the construction of a neuronal circuit in vivo*

Résumé

Neuronal circuits are the functional building blocks of the nervous system. In the embryo, their development requires cellular motion: neurons migrate from their birthplace to their final location, and their protrusions, axons and dendrites, emerge and grow before connecting through synapses. So far, most studies have focused on attractive and repulsive chemical cues guiding neuronal migration and axon navigation. Yet the movement of neurons and their protrusions is likely to be influenced by extracellular mechanical forces, whose functions have started to be studied *in vitro*, but remain largely unexplored *in vivo*. Thus, dissecting out the role of mechanical cues in complex 3D neural tissues represents a major challenge for modern neurosciences.

In this project, we will address this question using the zebrafish olfactory circuit as a model system. Its location underneath the skin of the embryo makes it amenable to live imaging and mechanical perturbation. We already obtained imaging and force measurement data suggesting an important function for mechanical forces in the formation of the olfactory circuit (1). To further clarify this role, the student will employ a pluridisciplinary strategy combining multiscale live imaging with micro-manipulations to measure forces and perturb the mechanical state of the embryo. On a longer term, we will investigate the molecular mechanisms underlying the propagation and sensing of mechanical forces in our system. The student will join an existing interdisciplinary collaboration between the biologist Marie Breau (Institut de Biologie Paris Seine), specialised in cell migration and morphogenesis (1,2,3), and the physicist Isabelle Bonnet (Institut Curie), expert in mechanical forces and their *in vivo* measurement with laser ablation (1,4,5).

Références

- (1) **Breau MA, Bonnet I**, Stoufflet J, Xie J, De Castro S, Schneider-Maunoury S. Extrinsic mechanical forces mediate retrograde axon extension in a developing neuronal circuit (*in revision*).
- (2) **Breau MA**, Wilkinson DG, Xu Q. A Hox gene controls lateral line cell migration by regulating chemokine receptor expression downstream of Wnt signaling (2013) *PNAS* 110:16892-7.
- (3) **Breau MA**, Wilson D, Wilkinson DG, Xu Q. Chemokine and Fgf signaling act as opposing guidance cues in formation of the lateral line primordium (2012) *Development* 139:2246-53.
- (4) **Bonnet I**, Marcq P, Bosveld F, Fetler L, Bellaïche Y, Graner F (2012) Mechanical state, material properties and continuous description of an epithelial tissue. *J R Soc Interface* 9:2614-23
- (5) Bosveld F*, **Bonnet I***, Guiaro B*,..., Bellaïche Y (2012) Mechanical control of morphogenesis by Fat/Dachsous/Four-jointed planar cell polarity pathway. *Science* 336:724-7 *equal contribution

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire de Cristallographie et RMN Biologiques - CNRS UMR 8015

Adresse : Faculté de Pharmacie, 4 avenue de l'Observatoire, 75 270 Paris cedex 06

Directeur du laboratoire : Pr. Nicolas Leulliot

Équipe de recherche (si pertinent) : Signalisation et transport membranaire

Responsable de l'équipe : Dr. Isabelle Broutin

Responsable de stage : Dr. Isabelle Broutin et Dr. Gilles Phan

Adresse électronique : isabelle.broutin@parisdescartes.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : 563 Médicament-Toxicologie-Chimie-Imageries

Profil recherché : Biochimiste ou biophysicien

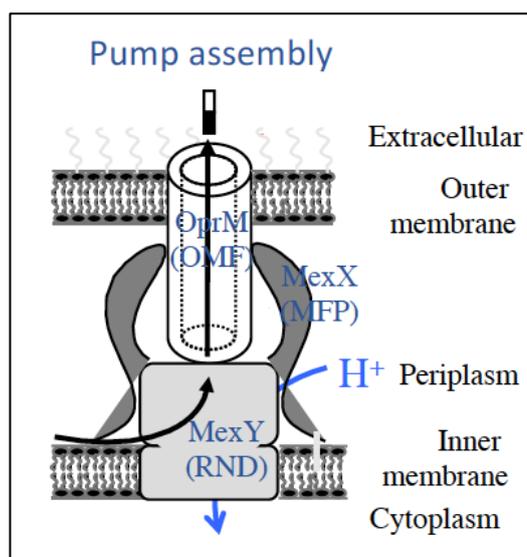
Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Bourse du ministère ou ANR

Titre du stage : Reconstitution de la pompe d'efflux MexXY-OprM de *P. aeruginosa*

Résumé :

Les patients atteints de mucoviscidose, de par l'épaississement et la stagnation du mucus pulmonaire, présentent un terrain favorable à l'infection chronique de leur voie respiratoire par la bactérie opportuniste *Pseudomonas aeruginosa*. Depuis quelques années, nous observons une résistance accrue aux traitements anti-*Pseudomonas* (β -lactames, fluoroquinolones et aminoglycosides) liée à un système de transport membranaire bactérien : les pompes d'efflux. Il s'agit de complexes macromoléculaires qui permettent l'efflux des antibiotiques à travers les deux membranes (interne et externe) de la bactérie Gram-négatif. Les pompes d'efflux appartiennent à la famille des transporteurs RND (voir figure). Ce sont



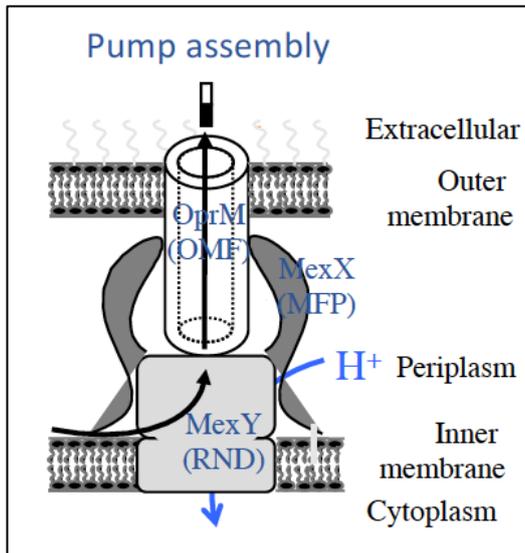
des complexes tripartites constitués d'un transporteur de la membrane interne (RND), d'un adaptateur périplasmique (MFP) et d'un canal de la membrane externe (OMF). Ces composants ont été caractérisés individuellement chez de nombreuses bactéries, cependant, les mécanismes qui régissent l'assemblage et l'ouverture de la pompe, essentiels pour son fonctionnement, demeurent mal compris. Nous nous proposons d'élucider la structure cristallographique d'une pompe d'efflux reconstituée, et pour cela nous nous intéresserons à la pompe MexXY-OprM qui est la seule capable d'exporter les aminoglycosides. Dans un premier temps, un travail important d'expression et de co-purification de la pompe MexXY-OprM

sera réalisé. Une fois le complexe membranaire stabilisé, des essais de cristallisation seront abordés. La formation du complexe sera également quantifiée par d'autres approches biophysiques, telles que la microcalorimétrie, la thermophorèse ou le BN-PAGE.

Title: Assembly of the efflux pump MexXY-OprM from *P. aeruginosa*

Summary:

People living with Cystic Fibrosis are at greater risk of getting lung infections because of their thick and sticky mucus builds up in their lungs, thus allowing germs to multiply, especially the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. After several decades of intensive use of antibiotics we are now facing the advent of multidrug-resistant strains from the usual anti-*Pseudomonas* treatment (β -lactams,



fluoroquinolones et aminoglycosides), mainly because of the expression of a panel of active membranous efflux pumps using the proton motive force as energy source. The efflux pump belongs to the RND transporter family and is made of three different proteins (see figure): an outer-membrane channel OMF, a periplasmic fusion protein MFP and the inner-membrane RND transporter. Each of the partners has been structurally characterised, but the assembly and opening mechanism of the whole efflux pump complex remain unclear. To understand the efflux pump assembly and function, we aim at solving the crystal structure of the entire complex, in particular we will focus on the clinically important MexXY-

OprM pump, which specifically eliminates the aminoglycosides. At first, an important work of production and purification of the entire complex will be optimised in order to crystallise the complex. Other biophysical approaches will be used to quantify the complex formation, i.e. micro-calorimetry, thermophoresis or BN-PAGE.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire de Chimie Physique (LCP)

Adresse : Bât 349 Avenue Jean Perrin, Université Paris Sud, 91405 Orsay

Directeur du laboratoire : Philippe Maitre

Équipe de recherche (si pertinent) : Rayonnements ionisants et Biosystèmes

Responsable de l'équipe : Cécile Sicard-Roselli

Responsable de stage : Cécile Sicard-Roselli

Adresse électronique : cecile.sicard@u-psud.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : 2MBI n°571

Profil recherché : avoir un intérêt pour l'interface physico-chimie/biochimie-biologie

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : bourse ministérielle

Titre du stage : Pourquoi certaines protéines sont-elles très efficaces à capter les radicaux émis lors d'un stress oxydant ?

Résumé :

Les nombreux travaux portant sur l'impact du stress oxydatif ont montré une grande variabilité de la capacité des protéines à capter des radicaux oxydants. Afin d'identifier certains paramètres responsables de cette réactivité, nous proposons de soumettre plusieurs protéines ou peptides à différents radicaux tels que le radical hydroxyle ou l'anion superoxyde. Ces radicaux seront produits sélectivement par irradiation en solution aqueuse en présence ou non de capteurs spécifiques. L'identification et la quantification des dégradations radio-induites seront déterminées par des méthodes d'analyse physico-chimiques et biochimiques (spectroscopies optiques, électrophorèse, HPLC, spectrométrie de masse, ...). Elles seront ensuite mises en relation avec les propriétés structurales des protéines ainsi que leur activité biologique. Selon le profil du candidat, des expériences pourront être menées pour savoir si les dommages observés persistent en cellule vivante (microscopie de fluorescence, western blot).

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

| | |
|--------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Laboratoire : | Laboratoire Interdisciplinaire de Physique |
| Adresse : | 140 rue de la Physique – 38402 St. Martin d'Hères (Grenoble) |
| Directeur du laboratoire : | Jean-Louis Barrat |
| Équipe de recherche (si pertinent) : | Materiaux, Optique et Techniques Instrumentales pour le Vivant |
| Responsable de l'équipe : | Antoine Delon |
| Responsable de stage : | Giovanni Cappello |
| Adresse électronique : | Giovanni.Cappello@univ-Grenoble-alpes.fr |
| N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : | N°47 – Ecole Doctorale de Physique |
| Profil recherché : | Physicien experimentateur avec intérêt pour l'interface avec la biologie |
| Possibilité de poursuite en thèse : | OUI |
| Si oui financement envisagé : | Bourse du ministère |
| Titre du stage : | Optique cohérente et analyse de speckle pour déterminer la structure et dynamique d'assemblages multicellulaires en 3D. |

OBJECTIF : déterminer les propriétés structurales et l'**évolution dynamique des assemblages multicellulaires tridimensionnels**, à partir des figures de speckle produites lorsqu'ils sont éclairés par une **lumière cohérente**.

CONTEXTE : les **propriétés des tissus vivants** (géométrie, symétrie, topologie, ...) ne peuvent pas être déduites uniquement des caractéristiques des cellules qui les constituent, mais **émergent** aussi de leur **auto-organisation**. La formation et le maintien de ces structures 3D dépend en partie de la dynamique des cellules qui le constituent, car elles se divisent, migrent et meurent. **Pour comprendre cette organisation il faut suivre en temps réel les observables statistiques, telles que la distribution des distances entre cellules voisines, les vitesses de migration des cellules, la symétrie du tissu et son anisotropie.**

POSITIONNEMENT : Notre pari est que ces observables peuvent être mesurés sans recours à la microscopie, mais de manière rapide et précise à partir de la dynamique de l'image de speckle du tissu observé, lorsqu'il est éclairé avec une lumière cohérente (laser). On constate que cette approche présente certains avantages: outre la rapidité de la mesure et l'accès direct à la moyenne d'une observable statistique, on peut analyser des tissus très épais et avec une faible dose d'éclairage (10^{-8} fois plus faible qu'en microscopie de fluorescence), donc une photo-toxicité négligeable et un temps d'observation de plusieurs jours.

EXPERIENCES ENVISAGEES : durant le stage, on propose d'utiliser l'analyse de speckle pour étudier la mobilité cellulaire dans des agrégats tridimensionnels (sphéroïdes multicellulaires) en fonction de la pression mécanique appliqué à l'agrégat. En particulier, on étudiera si une transition d'état liquide → solide a lieu lorsque l'agrégat est comprimé et que l'espace entre cellules devient limitant. On évaluera aussi l'impact de cette transition sur la migration, la division et la mort cellulaire, ainsi que sur la compétition entre deux populations cellulaires différentes (par exemple saines et cancéreuses) cultivées simultanément.

COLLABORATIONS : Institut Langevin (R. Carminati et R. Pierrat), Clnatec (A. Millet), I. Curie (J-F Joanny).

M2 Internship: Viral self-assembly and defect dynamics

Internship advisor:

Martin Castelnovo

Laboratoire de Physique, Ecole Normale Supérieure de Lyon, Lyon, France

Abstract: A virus is a molecular object mainly composed of a genome and a protective proteic shell. Various morphologies of these thin shells, ranging from ideal icosahedron to conical shape, are observed across viral families. Thin shell elasticity allows to rationalize the observations of most shapes based on the value of the spontaneous curvature of the shell. We recently showed that the self-assembly pathway is dictated by the need of relaxing the mechanical stress that is inherent to the growth of a curved substrate. For high spontaneous curvature, the growing structure must incorporate defects, mainly disclinations or pentamers. The position of these defects will determine the overall shape of the virus and therefore its curvature.

By performing nanoindentation with AFM on different virus, it is possible to change the shape of the shell. The question to be addressed theoretically within this internship is to model the elastic response of such experiments, focusing in particular on the role played by the defects, and their position and dynamics. The model to be designed and analyzed should take into account the dynamics of the defects and their interaction as the shape of the supporting shell is changed. We will use numerical methods in order to minimize the energy of the deformed shell, and we will use also scaling approach in order to rationalize the numerical observations.

Some references on viral capsid shape, and thin shell elasticity

[1] Wagner J., Zandi R., *The robust assembly of small symmetric nanoshells*, **Biophys. J.** 109, 956 (2015).

[2] Buenemann M., Lenz P. *Elastic properties and mechanical stability of chiral and filled viral capsid*, **Phys. Rev. E** 78, 051924 (2008).

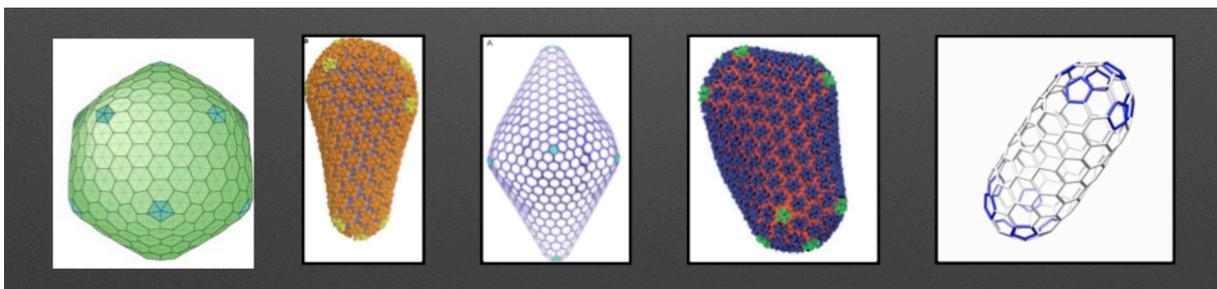


Figure : Various viral morphologies corresponding to different distribution of pentameric defects.

Contact

Email : martin.castelnovo@ens-lyon.fr

« PROPOSITION DE STAGE »

Laboratoire : Laboratoire Écologie, Systématique, Évolution (UMR 8079),

Adresse : Université Paris-Sud 11, Bâtiment 362, rue André Guinier, 91405 Orsay - FRANCE

Directeur du laboratoire : Jane Lecomte

Équipe de recherche (si pertinent) : Équipe Écophysiologie Végétale, Groupe Biophotonique Végétale

Responsable de l'équipe : Kamel Soudani

Responsable de stage : Zoran G. CEROVIC & Gwendal LATOUCHE

Adresse électronique : zoran.cerovic@u-psud.fr, gwendal.latouche@u-psud.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED567 Sciences du végétal : du gène à l'écosystème

Profil recherché : Physicien ou biologiste, universitaire, ESPCI, Centrale, maîtrisant des logiciels de traitement de données ou de programmation (MATLAB, R, IGOR, Visual Basic, C++...) intéressé par la recherche interdisciplinaires.

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : bourse du Ministère de l'Enseignement et de la Recherche ou thèse dans le cadre du programme CIFRE

Titre du stage : **Détection optique des vignes malades au champ**

Résumé :

Contexte

On estime que l'impacte des agents pathogènes sur les récoltes est d'environ 33 milliards de dollars de pertes chaque année aux États-Unis [1]. Actuellement, le dépistage visuel est la méthode la plus largement utilisée pour le suivi des maladies de la vigne, ce qui est coûteux en main-d'œuvre et en temps. La détection de maladies des cultures en utilisant la fluorescence en est encore à ses balbutiements [1, 2, 3]. C'est néanmoins un axe majeur des recherches actuelles de notre équipe avec l'objectif de créer un outil pratique pour une surveillance des maladies de la vigne en temps réel à grande échelle dans des conditions de terrain [4]. Nous avons déjà montré que le capteur proximal Multiplex-330 de FORCE-A (<http://www.force-a.com/>) développé en collaboration avec notre équipe, peut détecter la présence à la fois symptomatique et pré-symptomatique de certaines maladies de la vigne [4] grâce à la fluorescence bleu-violet (VBF) des stilbénoides (phytoalexines) présents dans les feuilles de vigne infectées.

Objectifs du stage

Au sein d'un programme pluriannuel portant sur le développement des systèmes d'aide à la décision en viticulture ce travail de stage contribuera à la discrimination des feuilles infectées des feuilles saines sous différentes conditions de mesure par un capteur embarqué, ce qui est la base pour pouvoir cartographier au champ la présence de maladies cryptogamiques de la vigne. Les résultats obtenus contribueront à la promotion de la viticulture de précision.

Méthodes

Analyse de données et nouvelles mesures

Un nouveau capteur de fluorescence embarqué sur tracteurs dédié à la détection des maladies de la vigne est dans une phase de développement avancée dans notre équipe. Les premières mesures sur standards et sur feuilles ont été acquises par la maquette en 2016. Durant le stage, la candidate/candidat travaillera sur la définition de nouveaux indices optiques et protocoles d'acquisition de fluorescence par ce nouveau capteur. Pour cela elle/il aura à sa disposition les données acquises en 2016 sur des standards variés et des feuilles au laboratoire et au champ (vignoble). Elles seront complétées par d'autres données quantitatives acquises au laboratoire et en serre par la candidate/candidat sur la fluorescence violette-bleu (VBF) excitée sous ultraviolet et la fluorescence chlorophyllienne (rouge) des feuilles de vigne pour développer et valider les indices optiques et pour estimer leur pouvoir de discrimination entre feuilles infectées et saines. De plus, des informations sur la teneur en chlorophylle,

flavonols et anthocyanines des feuilles seront disponible grâce à l'utilisation en parallèle d'un Multiplex 3.6 de FORCE-A. Des logiciels de traitement de données (MATLAB, R, IGOR...) seront à la disposition de la candidate/candidat.

Tests et adaptation du système d'acquisition

La partie additionnelle et optionnelle du stage (juin-août, sous contrat) permettra de faire des acquisitions en saison au vignoble à Livry-sur-Seine au *Clos des Pierrottes*. Ces données permettront à la candidate/candidat de se familiariser non seulement avec les contraintes de mesures au champ mais aussi avec les logiciels de géostatistique et de cartographie (ArcGIS, Surfer...).

Calendrier prévisionnel

| | février | mars | avril | mai-juin | juin-août |
|-------------------------------------------------|---------|------|-------|----------|-----------|
| Bibliographie | x | x | x | | |
| Traitement de données et mesures | | x | x | | |
| Rédaction du rapport et soutenance | | | | x | |
| Mesures au vignoble et cartographie (optionnel) | | | | | x |

Références :

- [1] S. Sankaran, A. Mishra, R. Ehsani, C. Davis, A review of advanced techniques for detecting plant diseases, *Comput. Electron. Agric.* **72** (2010) 1-13.
- [2] A.-K. Mahlein, E.-C. Oerke, U. Steiner, H.-W. Dehne, Recent advances in sensing plant diseases for precision crop protection, *Eu. J. Plant Pathol.* **133** (2012) 197-209.
- [3] F. Hahn, Actual Pathogen Detection: Sensors and Algorithms - a Review, *Algorithms* **2** (2009) 301-338.
- [4] G. Latouche, C. Debord, M. Raynal, C. Milhade, Z. Cerovic, First detection of the presence of naturally occurring grapevine downy mildew in the field by a fluorescence-based method, *Photochem. Photobiolog. Sci.* **14** (2015) 1807-1813.

« PROPOSITION DE STAGE »

Laboratoire : Laboratoire BNMI (UMR CNRS 6214 – INSERM U1083)

Adresse : Faculté de médecine, 3 rue Haute de reculée, 49045 Angers

Directeur du laboratoire : D. Henrion

Équipe de recherche (si pertinent) : Bioinformatique

Responsable de l'équipe : Marie Chabbert

Responsable de stage : Marie Chabbert

Adresse électronique : marie.chabbert@univ-angers.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : EDBS Nantes - Angers

Profil recherché : Biophysicien avec un intérêt marqué pour la biologie structurale, la modélisation moléculaire et les relations structure-fonction des protéines

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Bourse EDBS

Titre du stage : Simulations dynamiques des récepteurs de l'angiotensine II, AT1 et AT2 : similarités et différences des ensembles conformationnels accessibles

Résumé : Le laboratoire BNMI étudie les voies de signalisation régulées par l'angiotensine II via les récepteurs AT1 et AT2 dans le contrôle du tonus vasculaire et leur altération dans le cas du vieillissement ou de l'hypertension. Les récepteurs AT1 et AT2 font partie des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG). La résolution de la structure de plusieurs RCPG dans des conformations actives ou inactives, dont AT1, fournit de nombreuses informations structurales mais donne une vue statique des récepteurs. Cependant, les récepteurs sont des systèmes dynamiques et les RCPG peuvent être décrits en termes d'ensembles conformationnels. Les récepteurs échantillonnent diverses conformations, influencées par différents ligands et conduisant à différentes fonctions intracellulaires. Ces conformations peuvent être étudiées par des techniques de simulations dynamiques, en particulier la dynamique moléculaire « accélérée » qui permet d'observer des transitions entre états d'activation et d'échantillonner de façon plus complète l'espace conformationnel. Le sujet de ce stage vise à mieux comprendre (1) l'espace conformationnel accessible aux récepteurs AT1 et AT2, par des simulations de dynamique moléculaire classique et « accélérée », (2) l'influence de la fixation d'un ion sodium, un modulateur allostérique de ces récepteurs, sur cet espace conformationnel et (3) les différences observées dans les activités constitutives de ces deux récepteurs très proches phylogénétiquement. Ces connaissances sont nécessaires pour affiner la compréhension des relations structure-fonction de ces récepteurs et améliorer la spécificité des ligands ciblant spécifiquement l'un des deux récepteurs.

PROPOSITION DE STAGE ET DE THESE

Laboratoire : [Institut de Biologie du Développement de Marseille](#)

Adresse : [Campus Luminy](#)

Directeur du laboratoire : André LeBivic

Équipe de recherche (si pertinent) : [Physical approaches to cell dynamics and tissue morphogenesis](#)

Responsable de l'équipe : Pierre-François Lenne

Responsable de stage : Raphaël Clément / Pierre-François Lenne

Adresse électronique : raphael.clement@univ-amu.fr

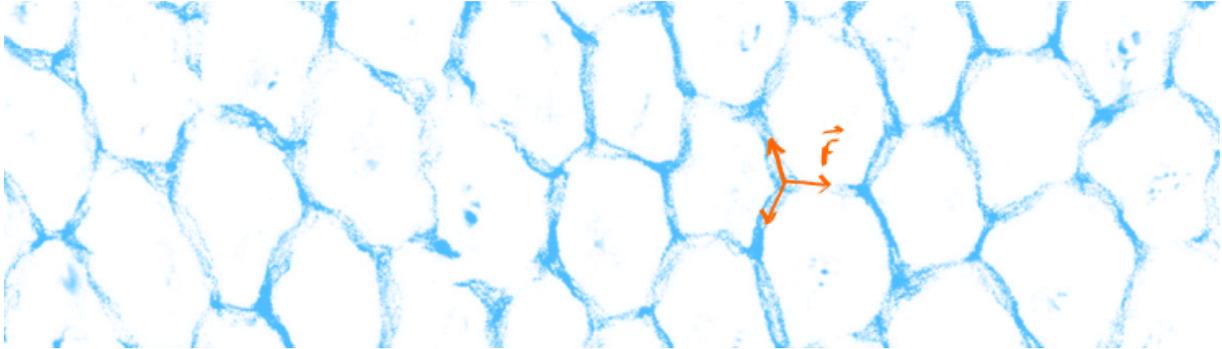
N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : [Ecole doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé \(ED 62\)](#)

Profil recherché : Coursus en Physique ou en Biologie

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : ANR ou MNESR

Titre du stage : Forces at cell contacts *in vivo*



Résumé : Embryonic development is a complex biophysical process in which an organism is sculpted by deformations of cells and tissues. Cells' mechanical integrity is provided by their cortex, a dense network of actin filaments lining cell membranes. Molecular motors, such as Myosin II, crosslink the actin network, and generate forces at cell contacts by moving on actin filaments. These forces play a crucial role during morphogenesis, and have been shown to participate in archetypic morphogenetic movements, such as tissue elongation or tissue invagination.

In the lab, we have developed experimental and theoretical tools to study both force generation by Myosin motors and cells' mechanical properties. Knowledge of both forces and cell mechanics are indeed required for an integrative understanding of tissue morphogenesis. Yet, while it is well known that Myosin generate forces, the scaling between the concentration of motors and the force generated remains largely unknown.

We propose to study this by a systematic analysis of the correlation between Myosin concentration and forces *in vivo*, using *Drosophila* epithelium as a model system. Myosin levels will be assessed by quantitative fluorescence imaging such as confocal microscopy. Forces will be determined by laser ablation of cell contacts. Indeed, the instantaneous elastic recoil observed following ablation provides an estimate of forces prior to ablation. We also propose to complement these force measurements by a theoretical approach called force inference, in which forces are inferred from the angles at triple points (vertices) assuming mechanical equilibrium.

The intern will benefit from the group's expertise in biomechanics of morphogenesis, from state of the art experimental facilities, and from the interdisciplinary background of the lab, at the interface between physics and biology. Highly motivated students with background in physics or biology are welcome to apply.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Sanofi-Pasteur R&D, Formulation & Stability platform

Adresse : 1541 avenue M. Mérieux, 69280 Marcy l'étoile

Directeur du laboratoire : M. Luciani

Équipe de recherche (si pertinent) :

Responsable de l'équipe : S. Cigarini

Responsable de stage : D. Clenet

Adresse électronique : didier.clenet@sanofipasteur.com

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :

Profil recherché : Connaissances en biologie cellulaire/moléculaire, biochimie/biophysique, analyses et stabilité des protéines. Rigueur scientifique et autonomie. Ingénieur en physique-chimie, biologie/biotechnologie, Ingénieur pharma.

Possibilité de poursuite en thèse : NON

Si oui financement envisagé :-

Titre du stage :

Stabilisation des protéines membranaires à l'aide des amphipols et des calixarènes : application à la formulation des vaccins

Résumé :

Les protéines membranaires (MP) constituent une classe de protéines d'intérêt majeur pour la vaccination. Elles sont cependant difficiles à produire et à stabiliser en milieu aqueux sous leur forme native. En effet, elles tendent à se dénaturer dès qu'on les retire de leur environnement naturel constitué par la bicouche lipidique. Actuellement, la méthode conventionnelle très largement utilisée pour solubiliser les MP en milieu aqueux et éviter leur agrégation consiste en l'utilisation de détergents. Des problèmes de stabilité sont observés et des polymères spécifiques tels que les amphipols et les calixarènes s'avèrent être des composés alternatifs remarquables aux détergents pour garantir la stabilité de la protéine antigénique dans la formulation vaccinale.

Le stage aura pour objectif de purifier et de formuler des MP en présence de ces polymères et d'étudier l'efficacité et la stabilité des formulations vaccinales obtenues (stress thermique, analyses physico-chimiques, bioassays, ...). Le travail s'effectuera en interaction avec l'UMR 7099, laboratoire inventeur des amphipols avec qui nous collaborons (Institut de Biologie Physico-Chimique (IBPC), CNRS/Paris 7) et Calixar.

Le stage s'effectuera dans le respect des standards de qualité et de sécurité Sanofi Pasteur, en étroite collaboration avec les différentes Plateformes présentes au sein du Groupe (procédé, analyse).

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire Physico Chimie de Curie, UMR168

Adresse : 11 Rue Pierre et Marie Curie, 75005 Paris

Directeur du laboratoire : Maxime DAHAN

Équipe de recherche (si pertinent) : LIGHT-BASED OBSERVATION AND CONTROL OF CELLULAR ORGANIZATION (LOCCO)

Responsable de l'équipe : Maxime DAHAN

Responsable de stage : Bassam HAJJ / Maxime DAHAN

Adresse électronique : bassam.hajj@curie.fr , maxime.dahan@curie.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : EDPIF

Profil recherché : physique avec un intérêt à la biologie

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : A déterminer

Titre du stage : multiscale dynamics of single chromosomes probed with advanced imaging techniques in mammalian cells

Résumé :

Three-dimensional organization of the genome plays a crucial role in the regulation of gene expression and other nuclear functions (replication, repair). Genome organization has been mostly studied using a variety of biochemical, genetic and super-resolution imaging tools in fixed cells, often over large population. Yet, a proper understanding of the dynamic properties of chromatin and their influence on gene regulation is still missing. Thus, there is a pressing need for live imaging of chromatin dynamics at single cell level.

We propose to monitor, at the single chromosome level, the dynamics of individual fluorescent loci tagged using CRISPR-Cas9 a cutting edge genome editing tool (Cong et al. Science 2013). Multiple loci labeled with distinct colors will be created on the same chromosome, and positioned at known relative genomic distances (from hundreds of kb to tens of Mbs). The loci will be simultaneously tracked in the 3D space of the nucleus of mammalian cells, over timescales ranging from milliseconds to hours.

Monitoring the spatio-temporal behavior of these loci at high resolution raises many challenges, among which fast multicolor 3D imaging in crowded environment with high signal to noise ratio. Multifocus microscope (MFM) developed in our group can be used to image up to nine planes simultaneously on the same camera (Abrahamsson et al. Nature Methods 2013, Hajj et al. PNAS 2014). As a central element of MFM, diffraction gratings will be optimized for multicolor imaging with the best photon efficiency. Moreover MFM will be combined with light-sheet excitation (LSE) to confine the excitation to the imaged volume (Galland et al. Nature Methods 2015). As such, high optical sensitivity and ultrafast 3D imaging capabilities will be achieved.

The dynamics properties of individual chromosomes will thus be measured and compared to polymer models derived from HiC data (Lieberman-Aiden et al. Science 2009). Furthermore, the behavior of individual chromosomes will be correlated with transcriptional activity.

Related Lab References:

- B. Hajj, et al, PSF Engineering in Multifocus microscopy For Increased Depth Volumetric Imaging, Biomedical Optics Express Vol 7, No.3, p. 726-731 (2016)
- Spencer C. Knight, et al. "Dynamics of CRISPR-Cas9 Genome Interrogation in Living Cells", Science (2015) 350:823-6.
- S.Abrahamsson, et al, Multifocus microscopy with precise color multiphase diffractive optics applied in functional neuronal imaging, Biomedical Optics Express Vol 7, No.3, p. 855-869 (2016)
- D. Normanno et al, Probing the target search of DNA-binding proteins in mammalian cells using TetR as model searcher, Nature Communication, (2015)
- B. Hajj, et al, Whole-cell, multicolor superresolution imaging using volumetric multifocus microscopy, PNAS 111 (49) 17480-17485 (2014)
- B. Hajj et al, Accessing the third dimension in Localization-based Super-Resolution Microscopy, PCCP journal 16, 16340-16348 (2014)
- M. El Beheiry and M. Dahan, Nature Methods 10, 689(2013)
- S. Abrahamsson, et al, Fast and sensitive multi-color 3D imaging using aberration-corrected multi-focus microscopy, Nature Methods Vol. 10, NO. 1, 60-63 (2013)
- I. Izeddin et al. Opt. Express 20, 4957(2012)

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire de Physique des Solides

Adresse : Bât 510 – Université de Paris-Sud, 91405 Orsay Cedex

Responsable de stage : M. de Frutos / O. Stéphan

Email : marta.de-frutos@u-psud.fr / odile.stephan@u-psud.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement :
ED569 Innovation thérapeutique du fondamental à l'appliqué / ED 564 Physique en Ile de France

Profil recherché : Physicien(ne) motivé(e) par les sujets à l'interface physique - médecine

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Financement envisagé : Bourse de l'école doctorale

Titre du stage :

Mécanismes de formation de biominéraux d'intérêt médical

Résumé :

La formation de calcifications intervient dans de nombreux mécanismes physiologiques mais également dans des pathologies humaines très diverses (cancer, infections, maladies génétiques, maladies cardiovasculaires,...). Par exemple, le dépôt de phosphate de calcium à la pointe des papilles rénales est à l'origine de la formation des calculs rénaux. Ces biomatériaux complexes combinent des phases organiques et inorganiques en une structure multi-échelles, allant du nanomètre au macroscopique. Malgré des progrès importants dans la compréhension de la composition et structure des calculs, les mécanismes impliqués dans leur genèse restent encore à élucider. En effet, les études antérieures s'appuient sur des caractérisations à l'échelle du micron qui ne permettent pas d'analyser les étapes précoces de leur formation (échelle nanométrique).

Le stage proposé aura lieu au Laboratoire de Physique des Solides d'Orsay au sein du groupe STEM et a pour but d'analyser par des approches de spectromicroscopie la composition de nano-calcifications aux stades précoces de leur formation dans le contexte du tissu rénal. Il s'agit d'une collaboration avec des médecins du service de Néphrologie de l'hôpital Tenon qui assurent la préparation des échantillons. Le stagiaire effectuera des expériences sur un microscope électronique STEM (Scanning Transmission Electron Microscopy) couplé à un spectromètre de perte d'énergie d'électrons (Electron Energy-Loss Spectroscopy, EELS). Cette approche est d'un grand intérêt car elle permet d'obtenir des cartographies élémentaires d'éléments légers d'intérêt biologique (P, C, Ca, N, O,...) à une échelle nanométrique. Les données acquises seront traitées par des approches d'analyse statistique récemment mises au point pour améliorer la limite de détection et l'extraction des signatures spectrales d'intérêt. Ces signatures seront analysées afin d'identifier les composants organiques et inorganiques présents dans les nano-calcifications. Ces mesures permettront d'améliorer la compréhension des mécanismes de biominéralisation responsables de la formation et la croissance des calculs rénaux. Si le contexte le permet, le stagiaire pourra participer à des expériences complémentaires au synchrotron SOLEIL.

Le/la candidat(e) participera activement aux différents aspects du projet. Il sera formé aux approches de spectromicroscopie électronique et aux logiciels de traitement des données. Il devra posséder une solide formation en physique avec un intérêt marqué pour les aspects expérimentaux et une forte motivation pour les thématiques interdisciplinaires touchant à la médecine (pas de connaissances pré-requises).

N'hésitez pas à nous contacter pour plus d'informations.

Proposition of laboratory internship, master M2 Academic Year 2016-2017

Receiving team: Eco-evolution Mathématique, IBENS

- Name of the team leader : De Monte Silvia & Régis Ferrière
- Tel : 01 44323709
- Email : demonte@biologie.ens.fr
- PhD School (ED) : FdV, PSL
- Unit head : Antoine Triller
- Unit number : IBENS . CNRS UMR8197 . Inserm U1024

Team composition (2016)

- Nombre de chercheurs (dont HDR) : 3 (1)
- Nombre d'enseignants-chercheurs (dont HDR) : 3 (2)
- Nombre d'ingénieurs : 3
- Nombre de postdoctorants : 3
- Nombre d'étudiants en Master 2 : 1
- Nombre d'étudiants en 1^{ère} année de thèse : 2
- Nombre d'étudiants en 2^{me} année de thèse : 2
- Nombre d'étudiants en 3^{me} année de thèse : 1
- Nombre d'étudiants en 4^{me} année de thèse :
- Perspective de poursuite du projet en thèse :
Pas de bourse à présent, mais plusieurs possibilités de postuler à des Ecoles Doctorales.

Research project

The eco-evolutionary dynamics of collective motion in social amoebae.

Cellular slime molds, such as *Dictyostelium discoideum*, are called 'social amoebae' because their life cycle comprises a phase where cells grow in isolation, and a collective 'social' phase where they aggregate and form a multicellular fruiting body. Such multicellular body shares many features with metazoans: it undergoes differentiation in several tissues according to a developmental program, and only a subset of cells reproduces. While metazoans bodies grow by clonal expansion following a single-cell bottleneck, cellular slime molds form genetically heterogeneous aggregates. The potentially disruptive conflicts among cellular types is predicted to mar collective function altogether, and to lead to its loss on evolutionary timescales (1). Facultative multicellularity emerged instead at least six times independently along the tree of life, and thus appear to repose on general mechanisms that couple selection acting on the aggregates to the properties of single cells.

In our group, we integrate theoretical and experimental approaches to identify the mechanisms that structure facultatively multicellular populations, and to measure how such mechanisms affect collective function.

A recognized function of the multicellular slugs of *Dictyostelium* is to allow movement of the constituent cells towards light, thus dispersion at the soil surface. Indirect measurements indicate that phototaxis is more efficient the bigger the slug, and absent in small slugs (isolated cells as well do not display a movement directed towards a light source) (2). However, the actual number of cells within slugs, and the composition of genetically or physiologically heterogeneous slugs has never been quantitatively assessed.

A set of tools are now available in our group to address the relationships between size, composition, and movement of *D. discoideum*'s slugs, both experimentally and theoretically. We developed time-lapse imaging of slugs in setups where we can control illumination (position and timing of the light signal slugs respond to). Wide-field fluorescence microscopy allows us to count the number of cells in the slugs while at the same time analyzing the slug tactic behaviour (3). Our observations have been summarized in eco-evolutionary models with different degrees of realism (4–6).

Different opportunities are available in our group for motivated students – depending on the focus of their interests – along a gradient going from purely experimental to purely theoretical studies. In all cases, the students will take advantage of preliminary studies already realized in the group, of an interdisciplinary environment, and of collaborations already established in France and abroad.

Our internships aim at exposing students not only to the specific question they aim at answering, but also more widely to topics in the ecology and evolution of collective properties in microbial organisms.

The project is part of a collaboration between the Eco-Evolutionary Mathematics group of IBENS (Silvia De Monte, CNRS researcher and MdC ENS and Sandrine Adiba, engineer CNRS), and the Laboratoire de Biochimie of ESPCI (Clement Nizak, CNRS researcher).

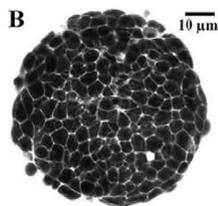
References:

1. Rainey PB, De Monte S. Resolving Conflicts During the Evolutionary Transition to Multicellular Life. *Annu Rev Ecol Evol Syst.* (2014) 45:599–620.
2. Rieu J-P, Barentin C, Sawai S, Maeda Y, Sawada Y. Cell movements and mechanical force distribution during the migration of dictyostelium slugs. *J Biol Phys.* (2004) 30(4):345–64.
3. Dubravcic D, van Baalen M, Nizak C. An evolutionarily significant unicellular strategy in response to starvation stress in Dictyostelium social amoebae. *F1000Research* (2014)
4. Garcia T, De Monte S. Group formation and the evolution of sociality. *Evolution.* (2013) 67(1):131–141
5. Garcia T, Brunnet LG, De Monte S. Differential adhesion between moving particles as a mechanism for the evolution of social groups. *PLoS Comput Biol.* (2014) e1003482
6. Garcia T, Doulcier G, De Monte S. The evolution of adhesiveness as a social adaptation. *eLife.* (2015) 4 : e08595.

Internship M2/PhD: Probing the elasticity of cancerous tumors with photoacoustics

The way mechanical properties arise from the elementary assembly of cells is a key mechanism for the formation of tissues and for the progression of degenerative diseases. For example, the higher deformability of tumors allows them to invade healthy tissues by transferring through the micro-environment. Understanding and tuning the mechanics of cell assemblies is therefore essential to control the progression of cancers. However, no existing modality can measure the elasticity of such objects, and the implementation of innovative means is required.

Acoustic waves are often used to probe complex systems such foams, granular materials or gels. They provide access to the mechanical properties (compressibility, shearing, viscosity) and allow implementation of non-ionizing imaging techniques that are not affected by diffusion in turbid media. The aim of this project is thus to **develop acoustic techniques to probe elementary assemblies of cells**. This approach will shed light on the link between mechanical properties, structure and biological functionality, thereby **offering innovating solutions for the understanding and control of tumors**.



Tumeur modèle.

In order to develop a platform that couples state-of-the-art optical microscopy techniques and ultrasonic techniques, it is necessary to manipulate acoustic waves without contact to the sample. For this, we will develop an inverted microscope based on the [photoacoustic technique](#) allowing **the generation and detection of acoustic waves with lasers**. We will also implement on this system a **device to compress the biological samples**. The analysis of the acoustic and compression measurements of model tumors developed in the Biophysics team (see figure) will demonstrate the link between mechanical properties and deformation of the tumor. The effect of various drugs on the mechanical properties of cancerous cell assemblies will then be tested.

The internship will involve : physics of waves, optical instrumentation for continuous and pulsed lasers, optical microscopy, preparing biological samples.

Profile of the applicant : a taste for interdisciplinary projects where physics meets biology. Project involving mostly experimental optics/mechanics. Possibility to develop analytical modeling of the experimental results.

The project can be followed by a PhD.

More information : website of the [Biophysics team](#) webpage of [Thomas Dehoux](#).

Contact : Thomas Dehoux

Institut Lumière Matière
Université Lyon 1, Bâtiment Brillouin

+33 (0)4 72 44 85 22
thomas.dehoux@univ-lyon1.fr

Institut Lumière Matière

UMR5306 CNRS
Université Claude Bernard Lyon 1
Domaine Scientifique de La Doua
Bâtiment Kastler, 10 rue Ada Byron
69622 Villeurbanne CEDEX, FRANCE

<http://ilm.univ-lyon1.fr>

T +33 (0)4 72 43 29 93

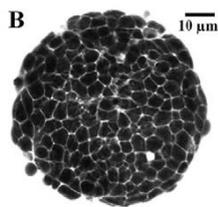
FAX +33 (0)4 72 43 11 30

E-mail contact.ilm@univ-lyon1.fr

Stage M2/thèse : sonder l'élasticité de tumeurs cancéreuses avec la photoacoustique

La façon dont les propriétés mécaniques émergent de l'assemblage élémentaire de cellules est une notion clef pour la compréhension de la formation des tissus et des mécanismes de progression de pathologies dégénératives. A titre d'exemple, la déformabilité des tumeurs conditionne leur capacité à envahir les tissus sains à travers le micro-environnement. Comprendre et agir sur la mécanique des assemblages de cellules représente donc un enjeu essentiel, notamment pour le contrôle de la progression des cancers. Cependant, aucune solution ne permet aujourd'hui de mesurer l'élasticité de tels objets, et l'implémentation d'une nouvelle méthode est nécessaire.

Les ondes acoustiques sont souvent employées pour sonder des systèmes complexes tels que les mousses, les milieux granulaires ou les gels. Elles donnent accès aux propriétés mécaniques (compressibilité, cisaillement, viscosité), et permettent d'implémenter des techniques d'imagerie non ionisantes et peu sensibles à la diffusion dans les milieux turbides. Le projet consiste donc à **mettre en place des techniques acoustiques pour sonder les assemblages élémentaires de cellules**. Cette approche permettra d'élucider le lien entre propriétés mécaniques, structure et fonctionnalité biologique, et de **proposer des solutions innovantes pour la compréhension et le contrôle des tumeurs**.



Tumeur modèle.

Afin de mettre en place une plateforme couplant les techniques de microscopie optique de pointe et les mesures ultrasonores, il est nécessaire de manipuler les ondes acoustiques sans contact avec l'échantillon. Pour cela, nous développerons un microscope inversé unique permettant la **génération et la détection par laser d'ondes ultrasonores** en utilisant la [technique photo-acoustique](#). Sur ce même dispositif, nous intégrerons un **système de compression mécanique des échantillons**. L'analyse des mesures ultrasonores et de compression obtenues sur des tumeurs modèles développées dans l'équipe Biophysique (figure ci-contre) permettra de

démontrer le lien entre les propriétés mécaniques et l'état de déformation de la tumeur. Une installation environnementale permettra ensuite de tester l'effet de différentes drogues sur les propriétés d'assemblages de cellules cancéreuses.

Ce stage impliquera : physique des ondes, instrumentation optique pour lasers continus et pulsés, microscopie optique, préparation d'échantillons biologiques.

Profil du candidat : goût pour les projets interdisciplinaires à la frontière de la physique et de la biologie. Projet à dominante optique/mécanique expérimentale. Possibilité de développer la modélisation analytique des résultats.

Possibilité de prolongation en thèse : oui.

Plus d'informations : site de [l'équipe Biophysique](#) et page personnelle de [Thomas Dehoux](#).

Contact : Thomas Dehoux

Institut Lumière Matière
Université Lyon 1, Bâtiment Brillouin

+33 (0)4 72 44 85 22
thomas.dehoux@univ-lyon1.fr

Institut Lumière Matière

UMR5306 CNRS
Université Claude Bernard Lyon 1
Domaine Scientifique de La Doua
Bâtiment Kastler, 10 rue Ada Byron
69622 Villeurbanne CEDEX, FRANCE

<http://ilm.univ-lyon1.fr>

T +33 (0)4 72 43 29 93

FAX +33 (0)4 72 43 11 30

E-mail contact.ilm@univ-lyon1.fr

Proposition de stage de recherche

Project title:

Functional interplay between EpCAM and E-cadherin in epithelial cell adhesion

Laboratory : Cell Adhesion & Mechanics lab

Institut JACQUES MONOD, UMR 7592 CNRS/Université Paris Diderot

Building Buffon - 15 rue Hélène Brion - 75205 Paris CEDEX 13

<http://www.ijm.fr/recherche/equipes/adhesion-cellulaire-et-mecanique/>

http://www.univ-paris-diderot.fr/Mediatheque/spip.php?article332&var_mode=calcul

Mentor civility: Delphine Delacour (CNRS) and René-Marc Mège (CNRS)

delphine.delacour@ijm.fr ; rene-marc.mege@ijm.fr

01 57 27 80 69

Summary of project

Cell adhesion complexes provide the stability to ensure tissue cohesion. Cadherins mediate epithelial cell-cell adhesion by forming trans-interactions. EpCAM is a transmembrane proteins specifically expressed in epithelia. Despite its obvious key role in keeping the epithelial integrity, clear molecular mechanisms of actions for EpCAM in epithelial cells have been barely described. Initially described as a non-conventional cell adhesion molecule, it has been reported to modulate epithelial cell-cell adhesion and E-cadherin membrane stabilization in animal models and cultured cells. However, EpCAM dynamics at plasma membranes as well as EpCAM function(s) in E-cadherin-based cell adhesion remains to be characterized at the molecular level.

We proposed to analyse the functional interplay between EpCAM and E-cadherin using biological, biochemistry and microfabrication approaches. Single epithelial cells will be spread on 2D substrates coated with recombinant proteins, and cell adhesion proteins behaviour will be determined. First we will test whether EpCAM itself is able to mediated cell adhesion. We will analyse EpCAM distribution in cells spread on EpCAM-Fc or E-cadherin-Fc coated substrates. Second, we will analyse E-cadherin behaviour at plasma membranes in cells spread on E-cadherin-Fc or EpCAM-Fc coated substrates. Cells expressing either wt or mutated forms of EpCAM-GFP (without extracellular or intracellular domain) will be studied. Protein clustering, lateral membrane dynamics and trafficking at the plasma membrane will be investigated using confocal, 3D-SIM and STED/PALM microscopy on fixed cells and live cell imaging.

We will determine how EpCAM and E-cadherin ensure epithelial cell adhesion. Is EpCAM *per se* able to trigger cell adhesion? Does EpCAM modulate E-cadherin-based cell adhesion efficiency? What are the dynamics and orientation of E-cadherin complexes in lateral membranes, and the plasticity of cell adhesion sites when EpCAM is missing? Does EpCAM belong to the E-cadherin-based adhesion complex or does it constitute an independent adhesion complex? The proposed analyses will allow us to answer these fundamental questions.

Epithelial behaviour in microfabricated 3D environment and consequences on tissue organization

Epithelial monolayers have to constantly and collectively adapt to microenvironment properties to maintain its organized state. The intestinal epithelium constitutes a good model to study these processes. It displays a simple and regular architecture, where proliferative and differentiated cells are distributed in distinct areas: the crypt and the villus, respectively. Therefore, the maintenance of the functional integrity of the intestinal epithelium requires a tight coordination between stem cell niche homeostasis, cell proliferation, cell progression along the crypt-villus axis, cell polarization and cohesion. Control of intestinal morphogenesis has long been shown to be triggered by morphogens and downstream signaling pathways in the crypt-villus axis. However, recent experimental evidence have led to recognition that tissue mechanical properties direct various cell functions including cell proliferation, migration and differentiation. Only very recent studies concern the role of mechanics for epithelial tissue regulation. The need of culture systems to study the multicellular behaviours during tissue morphogenesis where one could control different parameters provoked the development of biomimetic cultures. Microfabrication techniques offer new perspectives in making well-defined structured surfaces on a small scale and can be used to mimic 3D cellular environments *in vitro* in close physiological conditions. **We improve culture systems that mimic crypt-villus axis. We combine 3D soft-matter microfabrication techniques, human cell lines and primary mouse intestinal crypt cultures. We concentrate on understanding the physical cues regulating intestinal cell progression and polarization along the crypt/villus axis.**

We investigate the influence of substrate topography on the cell behaviour and consequences on epithelial differentiation. We determine which topographical parameter(s) is required to induce changes in cell homeostasis as well as in epithelial sheet expansion and polarization on 3D devices. We identify mechanisms through which epithelial cells are able of modulating their subcellular organization according with tissue physical properties, i.e. geometry, rigidity and chemical signature of the underlying substrate. The study takes place in a multidisciplinary lab at the crossroad between cell biology and biophysics, and combines microfabrication, cell biology and cell imaging technics.

Groupe « Cell Adhesion and mechanics », Institut Jacques Monod, Paris

<http://www.ijm.fr/recherche/equipes/adhesion-cellulaire-et-mecanique/>

http://www.univ-paris-diderot.fr/Mediatheque/spip.php?article332&var_mode=calcul

Encadrant : Delphine Delacour (CNRS)

delphine.delacour@ijm.fr

01 57 27 80 69

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Institut JACQUES MONOD

Adresse : UMR 7592 CNRS/Université Paris Diderot
Building Buffon - 15 rue Hélène Brion - 75205 Paris CEDEX 13

Directeur du laboratoire : Giuseppe Baldacci

Équipe de recherche (si pertinent) : Cell Adhesion & Mechanics lab

Responsable de l'équipe : Benoit Ladoux / René-Marc Mège

Responsable de stage : Delphine Delacour

Adresse électronique : delphine.delacour@ijm.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED562, BioSorbonne Paris Cité (BioSPC)

Profil recherché :

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : Ecole doctorale

Titre du stage : Functional interplay between EpCAM and E-cadherin in epithelial cell adhesion

Résumé :

Cell adhesion complexes provide the stability to ensure tissue cohesion. Cadherins mediate epithelial cell-cell adhesion by forming trans-interactions. EpCAM is a transmembrane proteins specifically expressed in epithelia. Despite its obvious key role in keeping the epithelial integrity, clear molecular mechanisms of actions for EpCAM in epithelial cells have been barely described. Initially described as a non-conventional cell adhesion molecule, it has been reported to modulate epithelial cell-cell adhesion and E-cadherin membrane stabilization in animal models and cultured cells. However, EpCAM dynamics at plasma membranes as well as EpCAM function(s) in E-cadherin-based cell adhesion remains to be characterized at the molecular level.

We proposed to analyse the functional interplay between EpCAM and E-cadherin using biological, biochemistry and microfabrication approaches. Single epithelial cells will be spread on 2D substrates coated with recombinant proteins, and cell adhesion proteins behaviour will be determined. First we will test whether EpCAM itself is able to mediated cell adhesion. We will analyse EpCAM distribution in cells spread on EpCAM-Fc or E-cadherin-Fc coated substrates. Second, we will analyse E-cadherin behaviour at plasma membranes in cells spread on E-cadherin-Fc or EpCAM-Fc coated substrates. Cells expressing either wt or mutated forms of EpCAM-GFP (without extracellular or intracellular domain) will be studied. Protein clustering, lateral membrane dynamics and trafficking at the plasma membrane will be investigated using confocal, 3D-SIM and STED/PALM microscopy on fixed cells and live cell imaging.

We will determine how EpCAM and E-cadherin ensure epithelial cell adhesion. Is EpCAM *per se* able to trigger cell adhesion? Does EpCAM modulate E-cadherin-based cell adhesion efficiency? What are the dynamics and orientation of E-cadherin complexes in lateral membranes, and the plasticity of cell adhesion sites when EpCAM is missing? Does EpCAM belong to the E-cadherin-based adhesion complex or does it constitute an independent adhesion complex? The proposed analyses will allow us to answer these fundamental questions.

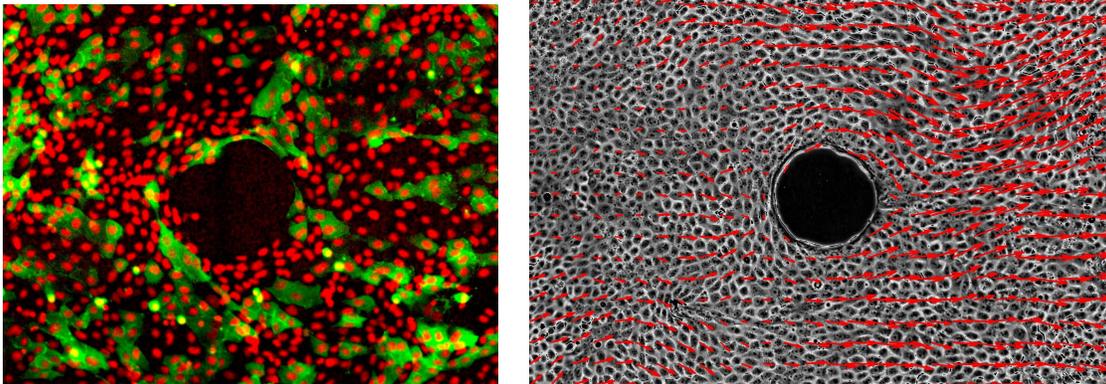
Experiment and/or modelling

In which directions do cells migrate ?

Internship and/or PhD thesis

It is now well acknowledged that mechanics is playing an important role on cell fate and behavior, in processes as different as embryonic development, blood clotting or tumor growth. To understand these behaviors, and disentangle mechanics versus genetics cues, biophysicists currently search to establish a rigorous quantitative description of tissue mechanics based on cell-level activity, and in particular on cell motility. An important quantity which drives cell migration is cell *polarity* : we and others aim at understanding how it is determined by cell shape, mechanical stress, cell velocity, and biochemical cues such as anisotropic protein distributions within the cell.

We culture cells on a substrate and force them to migrate collectively. The originality of the experiment is that cells are forced to flow around an obstacle (see Figure). Such a heterogeneous geometry has already been decisive to discriminate between models of complex fluids in the case of physical cellular materials. It enables to study simultaneously cells in different controlled configurations, with a wide range of velocity and polarity magnitudes and directions. Feasibility tests have been successful.



2D in vitro monolayer of cells, migrating from left to right around a circular obstacle. Left : nuclei are in red, and a few cells are highlighted in green. Right : cells contours are in grey levels, and the measured velocity field is superimposed as red arrows.

According to personal tastes and skills, the candidate could join either side of our collaboration for an internship, and even combine them for a PhD :

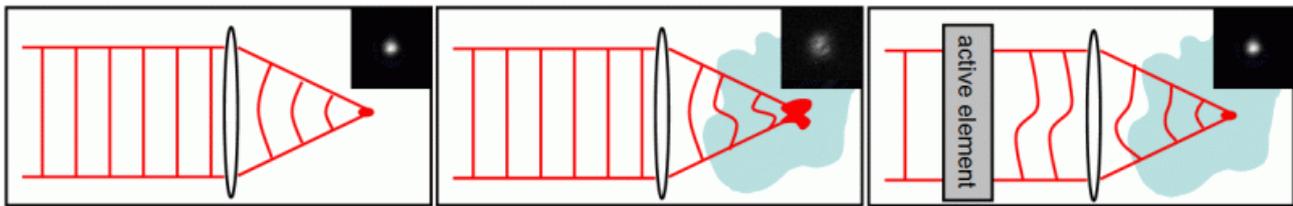
- **Modeling in Paris, with François Graner** : analyse our existing experimental data, to extract cell speed, shape, nucleus position ; then define and measure polarity ; establish a link with simulations performed by our colleagues in Porto Alegre (Brasil) ; incorporate the results into a theoretical modelling of active cell layers and of their instabilities.
- **Experiment in Lyon, with Hélène Delanoë-Ayari** : more complete experiments, with labelling of centrosomes ; tracking of proteins implied in polarisation and contractility ; force measurements.

Contact : Helene.Delanoë-Ayari@univ-lyon1.fr Institut Lumière-Matière Lyon
Francois.Graner@univ-paris-diderot.fr Complex Systems and Matter Paris

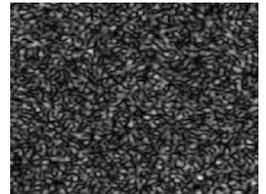
« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

| | |
|--------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Laboratoire : | Laboratoire Interdisciplinaire de Physique |
| Adresse : | 140 rue de la Physique – 38402 St. Martin d'Hères (Grenoble) |
| Directeur du laboratoire : | Jean-Louis Barrat |
| Équipe de recherche (si pertinent) : | Matériaux, Optique et Techniques Instrumentales pour le Vivant |
| Responsable de l'équipe : | Antoine Delon |
| Responsable de stage : | Antoine Delon |
| Adresse électronique : | Antoine.Delon@univ-Grenoble-alpes.fr |
| N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : | N°47 – Ecole Doctorale de Physique |
| Profil recherché : | Physicien avec intérêt pour l'optique et l'interface avec la biologie |
| Possibilité de poursuite en thèse : | OUI |
| Si oui financement envisagé : | Bourse du ministère |
| Titre du stage : | Understanding the transition from optical aberrations to light scattering, by means of fluorescence fluctuation microscopy. |

When one tries to look deeper into cells or tissues, optical aberrations caused by the specimen itself lead to an enlarged Point Spread Function (PSF) and hence a degradation of the optical resolution. Adaptive optics makes it possible to correct these aberrations and preserve the ultimate (small) PSF, using an active element such as a deformable mirror.



However, another important limitation when imaging into biological tissues is light scattering, which is the deflection of rays from their original directions by random refractive index inhomogeneities due to cell components and supramolecular structures. In the extreme case, this leads to a speckle pattern and one may think that any information about the object is lost.



Two main questions then arise:

- 1) How to describe the transition, from the aberration regime to the speckle one? More precisely, what are the parameters (imaging depth, properties of the refractive index inhomogeneities, etc.) that drive this transition?
- 2) Can one make profit of the speckle characteristics to still get information about the object?

We propose to study these questions using fluorescence fluctuation techniques. These methods make it possible to measure protein concentration, mobility and interactions in living specimen, by analysing the signal fluctuations caused by fluorescent molecules as they diffuse across a small observation volume. Any distortion of the observation volume induces a bias on the measurements. At LIPhy, we have shown that adaptive optics can be used to stabilize fluorescence fluctuations measurement in aberrating samples, like homogeneous solutions¹ or single cells². We now want to go further by combining adaptive optics and fluorescence fluctuation techniques to understand the limits and potentialities of this approach in scattering media.

The experiments will be performed on home-built microscopes equipped with deformable mirrors for aberration correction, using scattering phantoms or cellular layers.

-
- 1 Leroux C.-E., Wang I., Derouard J. & Delon A. "Adaptive optics for fluorescence correlation spectroscopy," *Opt. Express* (2011) 19, 26839-26849
 - 2 Leroux C.-E., Grichine A., Wang I. & Delon A. "Correction of cell-induced optical aberrations in a fluorescence fluctuation microscope" *Opt. Lett.* (2013) 38, 2401-2403

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire de Chimie-Physique et laboratoire de Chimie de la Matière condensée de Paris

Adresse : Campus d'Orsay, bâtiment 350, Orsay / UPMC - Tour 44-43 / Et.44, Place Jussieu, PARIS

Directeur du laboratoire : P.Maitre / F. Babonneau

Équipe de recherche (si pertinent) :

Responsable de l'équipe :

Responsable de stage : Ariane Deniset-Besseau/ Dominique Bazin

Adresse électronique : ariane.deniset@u-psud.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :

Profil recherché : Physicien – physico-chimiste-Biophysicien

Possibilité de poursuite en thèse : OUI - NON

Si oui financement envisagé : Financement Ecoles doctorales

Titre du stage : Investigation multi-échelle de l'accumulation dans les tissus humains de phosphates ou carbonates de calcium : Approche multidisciplinaire pour l'étude de la lithiase rénale et de la sarcoidose.

Résumé :

Contexte : La maladie lithiasique rénale (calculs rénaux) est une des pathologies les plus fréquentes chez l'homme, dont la prévalence s'accroît régulièrement, et qui affecte 10% de la population actuellement. Elle peut se compliquer d'insuffisance rénale ou d'infections dramatiques.

Les premières étapes de formation des calculs, sont très mal connus et leur identification est un enjeu de santé publique majeur.

Les objectifs de ce stage à l'interface de la médecine, de la chimie et de la physique sont de déterminer la topographie et la structure des calculs débutants dans le tissu rénal à l'échelle nanométrique à l'aide d'outils de pointe en terme de caractérisation des structures cristallines :

a. Micro-spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier (μ -FTIR), permettant de caractériser les phases cristallines présentes dans le tissu. Ces expériences seront complétées par des mesures en nanospectroscopie infrarouge au laboratoire de Chimie-Physique.

b. Microscopie électronique à transmission et à balayage (MEB, MET ...), qui permettra d'analyser la topographie et l'aspect des calcifications débutantes dans le tissu.

c. Cryomicroscopie électronique à transmission et analyses élémentaires par perte d'énergie (EELS), et tomographie à haute résolution. Collaboration Odile Stephan/Alexandre Gloter/Marta de Frutos au Laboratoire de Physique des Solides (Université Paris Sud).

d. des expériences d'OCT en collaboration avec Arnaud Dubois (Institut d'optique) afin de visualiser au mieux la calcification au sein du bloc de paraffine.

Ces techniques de pointe permettront de caractériser à l'échelle nanoscopique les toutes premières étapes de l'apparition des nanocalcifications, et leurs relations avec les composés organiques qui les entourent, ainsi que leur organisation dans l'espace. Nous avons observé des nanocalcifications au coeur de vésicules dont la nature est inconnue et qui pourraient être la première étape de la formation des calculs dans le tissu. L'identification de la nature de ces vésicules sera un enjeu important du stage.

Les expérimentations se feront en collaboration entre l'hôpital Tenon (Unité mixte UPMC-INSERM, UMR S 1155), le laboratoire de Chimie de la Matière condensée de Paris-LCMCP (Collège de France et Jussieu) et le laboratoire de Chimie-Physique (Université Paris-Sud,Orsay).

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire de Chimie-Physique

Adresse : Université Paris-Sud, Orsay

Directeur du laboratoire : Philippe Maitre

Responsable de stage : Ariane Deniset-Besseau

Adresse électronique : ariane.deniset@u-psud.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED 572 EDOM

Profil recherché : Biophysicien

Possibilité de poursuite en thèse : OUI - NON

Si oui financement envisagé : ED

Titre du stage : Imagerie infrarouge à l'échelle nanométrique : dynamique de stockage des lipides dans les compartiments cellulaires.

Résumé :

Le sujet de stage proposé ici s'inscrit au sein d'une collaboration engagée entre notre plateforme de nanospectroscopie infrarouge et plusieurs équipes travaillant sur le métabolisme des lipides chez les microorganismes et les eucaryotes notamment le groupe de «Métabolisme Energétique des *Streptomyces* » de l'Institut de Génétique et Microbiologie (I2BC, Univ Paris-Sud). Récemment, ce groupe a démontré que les lipides de réserve produits chez *Streptomyces* (bactérie du sol) peuvent être dégradés pour fournir des précurseurs entrant dans la biosynthèse des antibiotiques.

Le but du projet est d'acquérir une meilleure compréhension des processus impliqués dans le stockage et/ou la dégradation des lipides (triacylglycérols) chez les microorganismes. Actuellement, la localisation de ces lipides à l'échelle sub-cellulaire est réalisée par nanospectroscopie infrarouge. Leurs signatures infrarouges caractéristiques sont clairement identifiées et une étude systématique à l'échelle nanométrique est en cours pour analyser leur cinétique d'accumulation sous forme de vésicule chez *Streptomyces*. La prochaine étape est de pouvoir réaliser cette étude chez d'autres microorganismes et de déterminer plus finement la composition chimique des vésicules. Les dernières études ont montrées la présence d'acides gras libres au sein de ces corps lipidiques.

La question biologique est la suivante : Est-il possible que des souches cellulaires accumulent des acides gras libres ? En effet jusqu'à présent les formes d'acides gras libres détectées sont les formes carboxylate très dénaturantes pour la cellule. Lorsqu'ils sont détectés sous forme neutre, il est couramment admis que leur présence serait un artefact.

Le premier objectif de notre projet est de montrer in cellulo que les acides gras s'accumulent dans les gouttelettes lipidiques sous forme d'acide carboxylique. Deux techniques de nanospectroscopie infrarouge seront utilisées pour mener cette étude. Elles permettent de réaliser l'imagerie infrarouge (IR moyen 2,5 -> 25 μm) de nos objets avec une résolution d'une dizaine de nanomètre. Néanmoins, la technique présente certaines limites : il est notamment impossible de travailler en milieu aqueux (forte absorption de l'IR).

Le deuxième objectif de notre projet est de pouvoir réaliser la même étude sur cellules vivantes. De nouvelles approches expérimentales vont donc être développées pour remédier aux problèmes inhérents à la spectroscopie IR (milieu aqueux) et aux contraintes techniques imposées par le système lui même (configuration de l'éclairage – sensibilité...).

Références de l'équipe sur le sujet

-Monitoring TriAcylGlycerols Accumulation by Atomic Force Microscopy Based Infrared Spectroscopy in *Streptomyces* Species for Biodiesel Applications, Ariane Deniset-Besseau, Craig B. Prater, Marie-Joëlle Virolle, Alexandre Dazzi; Jan 2014, Journal of Physical Chemistry Letters

-A. Beopoulos, Z. Mrozova, F. Thevenieau, M.T. Le Dall, I. Hapala, S. Papanikolaou, T. Chardot, J.M. Nicaud, Control of lipid accumulation in the yeast *Yarrowia lipolytica*, Appl. Environ. Microbiol. 74 (2008) 7779-7789.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Matière et Systèmes Complexes

Adresse : 10 rue Alice Domon et Léonie Duquet

Directeur du laboratoire : Laurent Limat

Équipe de recherche (si pertinent) : DSHE

Responsable de l'équipe : Eric Falcon

Responsable de stage : Julien Dervaux et Philippe Brunet

Adresse électronique : julien.dervaux@univ-paris-diderot.fr et philippe.brunet@univ-paris-diderot.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED107

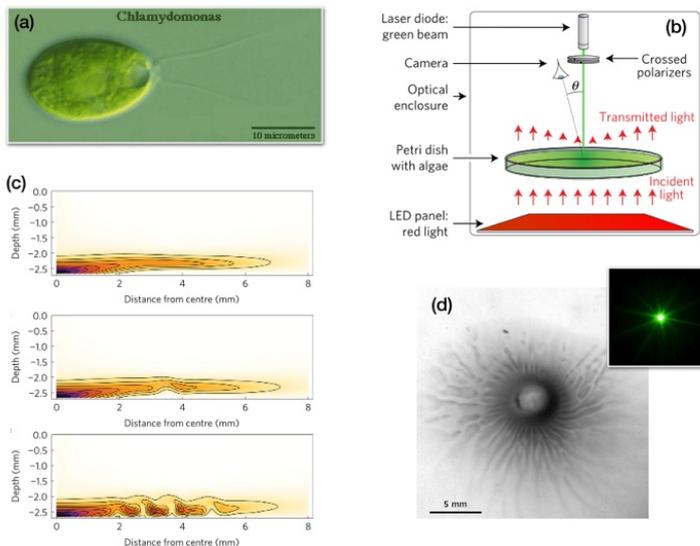
Profil recherché : Expérimentateur ou numéricien

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Bourse Ecole Doctorale

Titre du stage : Light-controlled bioconvection

Résumé :



Many photosynthetic micro-organisms are able to detect light and move toward optimal intensities. This ability, known as phototaxis, plays a major role in ecology by affecting natural phytoplankton mass transfers and has important applications in bioreactor and artificial microswimmers technologies. We have shown [1] that this property can be exploited to generate macroscopic fluid flows using a localized light source directed (Fig-a) toward shallow suspensions of the phototactic micro-organism *Chlamydomonas reinhardtii* (Fig-c). Within the intensity range of positive phototaxis, algae accumulate beneath the excitation light where collective effects lead to the emergence

of radially symmetric convective flows. These flows can be used as hydrodynamic tweezers to manipulate small floating objects. At high cell density and layer depth, we have uncovered a new kind of instability wherein the viscous torque exerted by self-generated fluid flows on the swimmers induces the formation of traveling waves (Fig b and d).

The goal of this internship is to investigate experimentally and/or numerically these bioconvective flows. Thanks to the support of the "Cellule Energie" of the CNRS, we are developing a fluorescence imaging system allowing us to visualize fluid flows in real time. By taking advantage of the versatility of dynamically controlling a light intensity field, we aim at generating and studying the stability of complex fluid flows, such as laminar chaotic flows.

[1] Dervaux, J, Capellazzi-Resta, M and Brunet, P. Light-controlled flows in active fluids. Nature Physics (2016)

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : UNIC, CNRS, FRE

Adresse : 1 Avenue de la Terrasse, 91198 Gif sur Yvette

Directeur du laboratoire : Yves Fregnac

Équipe de recherche (si pertinent) : Neurosciences Théoriques et Computationnelles

Responsable de l'équipe : Alain Destexhe

Responsable de stage : Alain Destexhe

Adresse électronique : destexhe@unic.cnrs-gif.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : 3C (UPMC)

Profil recherché : Physique

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : Bourse 3C, Bourse IDEX Paris-Saclay

Titre du stage : Information transport in sparsely-connected networks of neurons

Résumé :

Neurons in the cerebral cortex have numerous connections, but these connections are sparse, typically within the range of 2 to 10% connectivity for neurons within the same "local network". Such networks display self-sustained asynchronous irregular states, which is typically the type of dynamics seen in the awake brain. However, why and how such stochastic states display advantageous information processing capabilities is presently unknown. We would like to explore the possibility that, like in fluid turbulence, such stochastic states are characterized by an augmentation of transport. Defining a form of transport for Shannon information is possible for neural activity, and it was done previously in simple models. We would like to generalize this approach to more realistic neurons that interact through spikes, and for irregular activity states. The characterization of the information transport properties of such states could also be done from experimental data, thereby providing a new framework to better understand the information processing capabilities of the awake brain.

More information : <http://cns.iaf.cnrs-gif.fr>

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Unité de Neuroimagerie Cognitive

Adresse : CEA/SAC/DRF/I2BM/NeuroSpin, Bat 145, point courrier 156, 91191 Gif-sur-Yvette

Directeur du laboratoire : Stanislas Dehaene

Équipe de recherche (si pertinent) : Equipe de Neuroimagerie du Développement

Responsable de l'équipe : Ghislaine Dehaene-Lambertz

Responsable de stage : Jessica Dubois

Adresse électronique : jessica.dubois@cea.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : Cerveau-Cognition-Comportement (ED3C, ED n°158)

Profil recherché : physicien ou biologiste avec de bonnes connaissances en neurosciences et en informatique

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : bourse de l'école doctorale

Titre du stage : Exploring the early structural connectivity of the developing brain: a longitudinal study of the organization and maturation of white matter fibers in preterm newborns

Résumé :

The last trimester of pregnancy is a critical period for development of the brain, since most sensory and motor networks start to be functional with the growth of structural connections between distant cortical regions. Whereas imaging fetuses in utero remains a major challenge because of motion issues, studying preterm newborns with Magnetic Resonance Imaging (MRI) has offered the recent opportunity to characterize the temporal sequence of these processes and their relationships in vivo. Nevertheless many mechanisms remain to be studied and understood. In particular, the precise developing organization of white matter fibers in bundles over the last gestational weeks has been little studied so far.

In this context, the master project will aim to characterize the evolution of white matter connectivity in preterm newborns imaged longitudinally, by identifying immature bundles at 30 and 40 weeks of gestational age (w GA). Inter-hemispheric asymmetries will be evaluated particularly for the linguistic network, since a recent study of post-mortem fetuses has suggested few asymmetries of associative pathways during the preterm period (Song, et al. 2014), whereas we have observed strong similarities between infants and adults in vivo (Dubois, et al. 2016). We will further assess how the bundles trajectory and microstructural properties evolve during this critical period. Notably, we will investigate whether the bundles maturation already proceeds in an asynchronous manner as we have observed in the infant brain in relation to the myelination process (Kulikova, et al. 2015b). This study will provide original insights on the normal mechanisms of connectivity development, and may be generalized to provide early biomarkers of disturbances in case of lesions or pathologies.

Methods

This project relies on a collaboration with Utrecht University Hospital (Pr Benders, the Netherlands), where a large cohort of very prematurely born newborns has been imaged longitudinally at 30w and 40w GA with complementary MRI methods. On one hand, anatomical T2-weighted MRI has already enabled us to evaluate the development of the cortex: the appearance and asymmetries of cortical sulci (Kersbergen, et al. in press), and the progression of folding waves (Zomeno, et al. 2016). On the other hand, we have detailed the cortical microstructure based on quantitative parameters measured with Diffusion Tensor Imaging (DTI) (anisotropy, diffusivities) (Zomeno, et al. 2016). Aside from the cortex, this approach is also interesting to study the organization of white matter bundles, even in the immature brain (Dubois, et al. 2014). In particular the fibers trajectory can be evaluated with fiber tractography algorithms (Le Bihan and Johansen-Berg 2012).

During the master project, the student will focus on a sub-group of the healthiest newborns, and will mainly analyze the longitudinal DTI images. Different post-processing methods will be used. To identify the bundles in a reliable way, we will consider a recent approach based on clustering, which has been developed in NeuroSpin for the adult brain (Guevara, et al. 2012; Guevara, et al. 2011), and tested in the child brain (Kulikova, et al. 2015a). An important side of the internship will be to implement adaptations for the preterm brain in order to construct an atlas of major bundles both at 30w and 40w GA. The asynchrony in maturation will be evaluated with similar methods as proposed for infants (Dubois, et al. 2016; Kulikova, et al. 2015b). A particular focus will be put on pathways associated with the language network (e.g. arcuate fasciculus).

References

- Dubois J, Dehaene-Lambertz G, Kulikova S, Poupon C, Hüppi PS, Hertz-Pannier L. 2014. The early development of brain white matter: a review of imaging studies in fetuses, newborns and infants. *Neuroscience* 276(C):48-71.
- Dubois J, Poupon C, Thirion B, Simonnet H, Kulikova S, Leroy F, Hertz-Pannier L, Dehaene-Lambertz G. 2016. Exploring the Early Organization and Maturation of Linguistic Pathways in the Human Infant Brain. *Cereb Cortex* in press.
- Guevara P, Duclap D, Poupon C, Marrakchi-Kacem L, Fillard P, Le Bihan D, Leboyer M, Houenou J, Mangin JF. 2012. Automatic fiber bundle segmentation in massive tractography datasets using a multi-subject bundle atlas. *Neuroimage* 61(4):1083-99.
- Guevara P, Poupon C, Riviere D, Cointepas Y, Descoteaux M, Thirion B, Mangin JF. 2011. Robust clustering of massive tractography datasets. *Neuroimage* 54(3):1975-93.
- Kersbergen KJ, Leroy F, Išgum I, Groenendaal F, de Vries LS, Claessens NHP, van Haastert IC, Moeskops P, Fischer C, Mangin JF and others. in press. Relation between clinical risk factors, early cortical changes, and neurodevelopmental outcome in preterm infants. *Neuroimage*.
- Kulikova S, Dubois J, Guevara P, Mangin JF, Chiron C, Chemaly N, Napuri S, Poupon C, Hertz-Pannier L. 2015a. Toward a child white matter bundles atlas for developmental connectivity studies. *Proceedings of OHBM*.
- Kulikova S, Hertz-Pannier L, Dehaene-Lambertz G, Buzmakov A, Poupon C, Dubois J. 2015b. Multi-parametric evaluation of the white matter maturation. *Brain Struct Funct* 220(6):3657-72.
- Le Bihan D, Johansen-Berg H. 2012. Diffusion MRI at 25: exploring brain tissue structure and function. *Neuroimage* 61(2):324-41.
- Song JW, Mitchell PD, Kolasinski J, Ellen Grant P, Galaburda AM, Takahashi E. 2014. Asymmetry of White Matter Pathways in Developing Human Brains. *Cereb Cortex*.
- Zomeno M, Lefèvre J, Leroy F, Germanaud D, Lebenberg J, Kersbergen KJ, Claessens NHP, Moeskops P, Poupon C, Išgum I and others. 2016. Mapping cortical development from morphology to microstructure: A longitudinal study in preterms. *Proceedings of OHBM*.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

| | |
|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| Laboratoire : | Laboratoire Interdisciplinaire de Physique |
| Adresse : | 140 rue de la Physique – 38402 St. Martin d'Hères (Grenoble) |
| Directeur du laboratoire : | Jean-Louis Barrat |
| Équipe de recherche (si pertinent) : | Materiaux, Optique et Techniques Instrumentales pour le Vivant |
| Responsable de l'équipe : | Antoine Delon |
| Responsable de stage : | Aurélie Dupont |
| Adresse électronique : | aurelie.dupont@univ-Grenoble-alpes.fr |
| N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : | N°47 – Ecole Doctorale de Physique |
| Profil recherché : | Physicien avec intérêt pour l'interface avec la biologie |
| Possibilité de poursuite en thèse : | OUI |
| Si oui financement envisagé : | Bourse du ministère |
| Titre du stage : | Active Substrates to Probe Mechanotransduction |

Résumé:

Adherent cells can sense their physical environment (forces, rigidity, shape) and react to external mechanical stimuli. The translation of a mechanical signal into a biochemical signal is called mechanotransduction. The biochemical interactions are now well described showing very complex signaling networks. However, **the coordination in space and time with the mechanical signal is not yet clear and rarely addressed**. To better understand this process we aim to apply defined forces to single cells and measure their biochemical response.

We designed our experiment to have the dynamical control and measurement of both mechanical and biochemical signals. On the one hand, we are developing active substrates based on magnetic micropillars embedded in a thin layer of soft material. On the other hand, we intend to read the biochemical response with FRET-based biosensors. Thanks to an alternating excitation scheme, it is possible to measure quantitatively and in real-time the FRET signal. We now aim at combining both mechanical stimulation and biochemical readout to screen quantitatively the mechanotransduction dictionary.

The trainee will work together with a PhD student and a postdoctoral fellow, the whole project being a collaboration with biologists from the Institut Albert Bonniot and physicists from the Institut Néel. This internship requires experimental skills and a particular interest for interdisciplinary work. A follow-up PhD project would be to test back the signal transduction by activating signalling nodes via optogenetics and measuring the mechanical cell response.

Keywords: fluorescence live cell imaging, FRET, magnetic force, signal processing

Collaboration: O. Destaing (I. Albert Bonniot), N. Dempsey (I. Néel), Grenoble

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire: Laboratoire Jean Perrin

Adresse : UPMC, 4 place Jussieu, 75005 Paris, tour 32-33, 5eme étage (<http://www.labos.upmc.fr/ljp/?article13>)

Responsable de stage : André Estévez-Torres et Jean-Christophe Galas

Email : andre.estevez-torres@upmc.fr et jean-christophe.galas@upmc.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED 564, PIF, Ecole Doctorale Physique en Ile de France

Profil recherché: Physicien/ne, chimiste, biochimiste, ingénieur intéressé/e par le sujet

Possibilité de poursuite en thèse : Oui

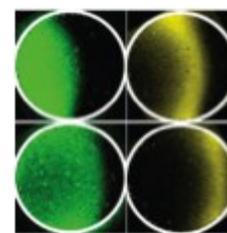
Financement envisagé : Pas de financement affiché

Titre du stage : Morphogenèse dans des systèmes moléculaires artificiels

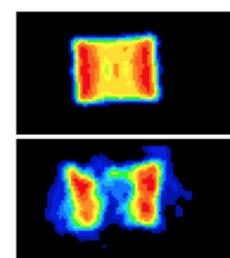
Résumé : Notre groupe de recherche met en œuvre des systèmes biochimiques minimaux en dehors des cellules pour essayer de comprendre la capacité des réseaux de réactions chimiques à traiter de l'information. Nos outils sont la nanotechnologie à base d'ADN et d'ARN et la microfluidique.

Dans un **premier axe** de recherche, nous nous intéressons aux **mécanismes générateurs d'ordre spatio-temporel dans les systèmes moléculaires**.

Comment se fait-il qu'un organisme constitué de molécules de taille nanométrique s'organise en une structure de taille millimétrique, comme c'est le cas pour un embryon ? Afin d'étudier cette question nous utilisons une approche *bottom up* qui consiste à mettre au point des programmes moléculaires reproduisant les mécanismes de réaction-diffusion responsables de la génération d'ordre dans le vivant : des structures de Turing, des ondes chimiques^{1,2} ou encore des générateurs de bandes. Nous utilisons une nouvelle boîte à outils moléculaire récente et très puissante avec laquelle il est aisé de designer et d'implémenter expérimentalement des réseaux de réactions chimiques présentant des comportements dynamiques prévus à l'avance³ (oscillations, bistabilité, seuillage). Cette boîte à outils est composée de simple brins d'ADN courts et de trois enzymes, et encode des mécanismes tels que l'activation, l'inhibition, ou la dégradation. Ils constituent donc un système minimal analogue aux réseaux de régulation génétique. La question que l'on se pose est la suivante : comment générer de façon rationnelle une structure spatiotemporelle de réaction-diffusion définie à l'avance ?



Ondes chimiques
d'ADN



Repliement d'origamis d'ADN vu par AFM. Le rectangle fait 100 nm de côté et 2 nm d'épaisseur.

Dans un **second axe** de recherche nous étudions des **mécanismes de régulation de l'expression génétique à base d'ARN**, toujours en dehors des cellules. En collaboration avec des biologistes synthétiques nous souhaitons répondre à la question suivante : peut-on développer des expériences *in vitro* susceptibles d'améliorer de façon significative la construction de réseaux de régulation à base d'ARN qui seront finalement implémentés *in vivo* ?

Dans un **troisième axe** nous couplons les deux approches précédentes à la **synthèse de matériaux contrôlée par des réseaux de réactions chimiques** maintenus **hors équilibre**, comme cela se produit *in vivo*. Pour ce faire nous utilisons des objets nanotechnologiques dont la structure peut être configurée à façon : les origamis d'ADN^{4,5}.

Si un de ces sujets vous intéresse n'hésitez pas à nous contacter (L3, M1, M2 ou thèse).

1. Padirac, A.; Fujii, T.; Estévez-Torres, A.; Rondelez, Y., [Spatial Waves in Synthetic Biochemical Networks](#) *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 14586-14592.

2. Zadorin AS, Rondelez Y, Galas J-C, & Estevez-Torres A, [Synthesis of programmable reaction-diffusion fronts using DNA catalyzers](#). *Phys. Rev. Lett.* **2015** 114(6). Highlighted in [Nature nanotech](#), [Physics](#) and [Chemistry world](#).

3. Montagne, K.; Plasson, R.; Sakai, Y.; Fujii, T.; Rondelez, Y., Programming an *in vitro* DNA oscillator using a molecular networking strategy *Mol Syst Biol* **2011**, *7*, 466.

4. Rothmund PWK, Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns. *Nature* **2006** 440(7082):297-302. 5. Lee Tin Wah J, David C, Rudiuk S, Baigl D, Estevez-Torres A, Observing and controlling the folding pathway of DNA origami at the nanoscale. *ACS Nano* 10(2):1978-1987, **2016**.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : UMR168 Physico-Chimie Curie

Adresse : 11 rue Pierre et Marie Curie

Directeur du laboratoire : Maxime Dahan

Équipe de recherche (si pertinent) : Mécanique et Génétique du Développement Embryonnaire et Tumoral

Responsable de l'équipe : Emmanuel Farge

Responsable de stage : Emmanuel Farge

Adresse électronique : efarge@curie.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement :

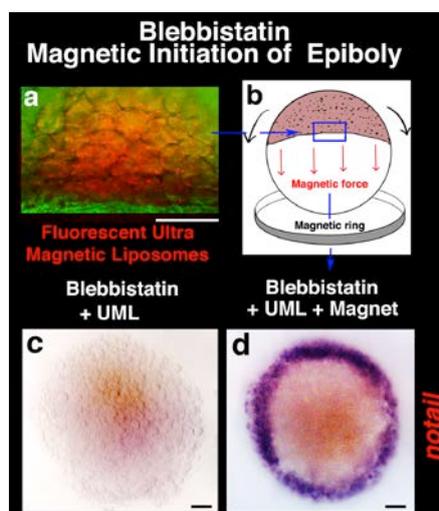
Profil recherché : physicien de formation, biophysicien

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : Ecole Doctorale de Physique Paris Ile de France 564 ; Frontières du Vivant ; Interface pour le Vivant

Titre du stage : Mechanical Induction of early embryos patterning

Résumé :



The “Mechanics and Genetics of Embryonic and Tumour Development” group works on the mechanotransductional regulation (mechanical activation of biochemical signalling pathways) of embryonic and tumorous development, *in vivo*.

The lab has developed magnetic tools allowing to quantitatively mimic embryonic morphogenetic movements in deficient contexts in different species (zebrafish and drosophila)^{1,2}, or tumour growth pressure, *in vivo*³. The setting up of these technologies, coupled to the genetic technologies associated to the embryonic or tumorous system studied, allowed to demonstrate the mechanical regulation of the differentiation of earliest embryonic tissues by embryonic morphogenetic movements, and the participation of tumour growth pressure in the tumorigenic biochemical deregulation.

These technologies also allowed to suggest endogenous mechanical cues due to morphogenetic movements as inducers of the next developmental steps active morphogenetic movements biomechanically that shape embryos, in *Drosophila*⁴.

Here the project consists in testing the generality of the existence of such mechanical induction of patterning processes in other species, in the perspective of the search of its evolutionary origins.

Contact Emmanuel Farge (efarge@curie.fr, 0156246760).

Website: <http://umr168.curie.fr/en/Farge-group>

- 1 Desprat, N., Supatto, W., Pouille, P.-A., Beaurepaire, E. & Farge, E. Tissue deformation modulates twist expression to determine anterior midgut differentiation in *Drosophila* embryos. *Developmental Cell* **15**, 470-477, doi:10.1016/j.devcel.2008.07.009 (2008).
- 2 Brunet, T. *et al.* Evolutionary conservation of early mesoderm specification by mechanotransduction in Bilateria. *Nature communications* **4**, doi:10.1038/ncomms3821 (2013).
- 3 Fernandez-Sanchez, M. E. *et al.* Mechanical induction of the tumorigenic beta-catenin pathway by tumour growth pressure. *Nature* **523**, 92-95, doi:10.1038/nature14329 (2015).
- 4 Pouille, P. A., Ahmadi, P., Brunet, A. C. & Farge, E. Mechanical Signals Trigger Myosin II Redistribution and Mesoderm Invagination in *Drosophila* Embryos. *Science signaling* **2**, ra16, doi:scisignal.2000098 [pii] 10.1126/scisignal.2000098 (2009).

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

| | |
|--------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Laboratoire : | Laboratoire Interdisciplinaire de Physique |
| Adresse : | 140 rue de la Physique – 38402 St. Martin d'Hères (Grenoble) |
| Directeur du laboratoire : | Jean-Louis Barrat |
| Équipe de recherche (si pertinent) : | Materiaux, Optique et Techniques Instrumentales pour le Vivant |
| Responsable de l'équipe : | Antoine Delon |
| Responsable de stage : | Bertrand Fourcade |
| Adresse électronique : | bertrand.fourcade@univ-Grenoble-alpes.fr |
| N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : | N°47 – Ecole Doctorale de Physique |
| Profil recherché : | Physicien théoricien avec intérêt pour l'interface avec la biologie |
| Possibilité de poursuite en thèse : | OUI |
| Si oui financement envisagé : | Bourse du ministère |
| Titre du stage : | Quantitative optogenetics with total internal reflection fluorescence fluctuations |

La signalisation cellulaire permet à une cellule d'interagir avec son environnement. Dans le passé, elle a souvent été présentée comme un ensemble de canaux d'informations indépendants où les informations venant de l'extérieur de la cellule transitent vers l'intérieur où elles sont intégrées au génome. Cette conception a été par la suite remise en question et la signalisation cellulaire est maintenant vue comme un ensemble de réseaux de signalisation qui peuvent interagir et interférer. Non seulement ces réseaux sont coordonnés dans le temps, mais il est aussi fort probable qu'ils le soient aussi dans l'espace.

L'une des questions les plus intéressantes est alors de savoir comment différentes organisations spatiales des acteurs moléculaires peuvent donner différents observables et comment cette organisation dépend de la dynamique temporelle et spatiale de quelques effecteurs clefs. Nous nous intéresserons ici aux différents modes d'organisation des structures d'adhérence comme schématisé sur la figure ci-contre. Différents schémas d'organisation sont a priori possibles et il sera crucial dans chaque cas de dégager les caractéristiques essentielles qui donnent lieu à des structures auto-organisées et autoentrenues rappelant les auto-solitons chimiques.

Dans le schéma ci-contre qui nous intéressera dans un premier temps, une molécule inactive dans le cytosol est recrutée sur la membrane par le biais de l'activation de son point d'ancrage. Elle peut alors diffuser et interagir avec des structures soit pour les exciter d'avantage, soit promouvoir une réaction chimique générant de nouveaux sites d'interaction, soit changer leur environnement membranaire qui influera à son tour sur l'état des récepteurs etc. Le travail qui pourra se poursuivre en thèse consistera à donner des schémas simples inspirés de ce qui est connu pour une kinase très importante (src) en biologie cellulaire. Il faudra traiter les différents modèles en dimension 1 et 2 de façon analytique, de façon numérique et simuler en utilisant des algorithmes de simulation stochastiques. Ce stage est avant tout théorique, mais le travail sera accompagné d'une interaction soutenue avec un groupe de biologistes cellulaires et des expérimentateurs physiciens.

« PROPOSITION DE STAGE »

Laboratoire : Laboratoire Écologie, Systématique, Évolution (UMR 8079),

Adresse : Université Paris-Sud 11, Bâtiment 362, rue André Guinier, 91405 Orsay - FRANCE

Directeur du laboratoire : Jane Lecomte

Équipe de recherche (si pertinent) : Équipe Écophysiologie Végétale

Responsable de l'équipe : Christophe François

Responsable de stage : Christophe FRANÇOIS, Nicolas DELPIERRE & Zoran CEROVIC

Adresse électronique : christophe.francois@u-psud.fr, nicolas.delpierre@u-psud.fr,
zoran.cerovic@u-psud.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED567 Sciences du végétal : du gène à l'écosystème

Profil recherché : Physicien ou biologiste, universitaire, ESPCI, Centrale, maîtrisant des logiciels de programmation et de traitement de données (MATLAB, R, IGOR, Visual Basic, C++...) intéressé par la recherche interdisciplinaires.

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : bourse du Ministère de l'Enseignement et de la Recherche ou thèse dans le cadre du programme CIFRE

Titre du stage : **Récolter le soleil pour le bon vin : modéliser l'interception de la lumière par la vigne pour prédire la qualité du raisin**

Résumé :

Contexte

L'enjeu majeur actuel dans le domaine des outils d'aide à la décision (OAD) en viticulture est de faire un lien fonctionnel entre la viticulture et l'œnologie basé sur des connaissances en physiologie de la vigne afin de pouvoir modéliser et prédire la croissance de la vigne et la qualité du raisin. En effet on ne peut produire de l'excellent vin qu'avec du raisin de qualité.

Du point de vue des processus écophysiologiques, les modèles fonctionnels existants, qu'ils soit développés pour d'autres cultures [1], pour d'autres ligneux [4] ou même pour la vigne [3; 8], ne prennent pas en compte la fructification. D'un autre côté les modèles spécifiques à la vigne [9] pèchent par un manque de prise en compte explicite de la nutrition azotée. Tous ces éléments montrent qu'il y a un besoin pour un modèle de fonctionnement de la vigne.

L'équipe Ecophysiologie Végétale développe depuis 20 ans un modèle de fonctionnement des arbres. Dans le même temps le groupe de Biophotonique Végétale a développé des capteurs optiques proximaux pour le suivi non-destructif de l'état de la végétation, notamment des cultures, et parmi elles de la vigne. La synergie entre les deux approches va aboutir au développement d'un modèle de fonctionnement de la vigne, qui permettra notamment l'intégration rapide et l'utilisation pratique des capteurs optiques proximaux en viticulture de précision.

La capacité à mesurer le contenu en chlorophylle (Chl) et flavonols (Flav) des feuilles et des couverts entiers, d'une part, et d'estimer la teneur en anthocyanes des grappes, d'autre part, le tout à une vitesse compatible avec la cartographie en temps réel, nous permet de faire le lien prédictif entre l'état du couvert et la production du raisin. D'autre part, les nouveaux indices optiques, comme le NFI, qui estime la densité des couverts basé sur la fluorescence des feuilles [5] et l'indice NBI, obtenu en divisant Chl par Flav, et qui reflète bien le contenu en azote massique de la feuille [2], pourraient être utilisés pour contraindre ou valider des modèles fonctionnels. En effet ces indices NBI et NFI, qui sont influencés par le rayonnement solaire intercepté par le couvert, peuvent servir à évaluer la qualité du module d'interception de la lumière qui serait utilisé dans un modèle fonctionnel de fonctionnement de la vigne.

Objectifs du stage

Au sein d'un projet plus large (le stage pouvant déboucher sur une thèse) dont l'objectif est de produire un modèle fonctionnel pour prédire la qualité du raisin, qui inclurait l'effet millésime (météo, température, éclaircissement,

précipitations) et l'expression du sol (eau, azote dans des zones homogènes), l'objectif spécifique du stage sera de choisir, puis adapter ou programmer un modèle d'interception de l'éclairement solaire par la vigne. Ce dernier permettra *in fine* de décrire l'influence de l'éclairement solaire (UV-VIS) sur la densité foliaire, la teneur en flavonoïdes et en chlorophylles des feuilles de vigne. La capacité de mesurer ces variables conjointement permettra de prédire la qualité du raisin et du vin.

Méthodes

Le module d'interception du rayonnement sera développé à partir de publications récentes [6; 7; 10]. L'analyse bibliographique réalisée par le stagiaire permettra de définir, conjointement avec les encadrants, la stratégie optimale de modélisation (portant notamment sur l'échelle de représentation). Celle-ci consistera en l'implémentation et en une analyse de sensibilité du modèle (sous Python, Matlab ou Fortran par exemple). Ce premier travail sera réalisé à stade phénologique constant (pleine floraison). Une extension possible du travail dans le cadre de ce stage sera l'extension d'application sur un cycle phénologique complet.

Les données pour la validation des mesures Multiplex et la confrontation au modèle seront acquises sur une parcelle à Livry-sur-Seine (Clos des Pierrotes) ou à Suresnes (le clos du Pas St Maurice) de juin à août 2017, dans le cadre d'un contrat à durée déterminée (CDD).

Calendrier prévisionnel

| | février | mars | avril | mai-juin | juin-août |
|--------------------------------------------------------------|---------|------|-------|----------|-----------|
| Bibliographie | x | x | x | | |
| Prise en main du logiciel | x | x | | | |
| Développement du modèle | | x | x | | |
| Rédaction du rapport et soutenance | | | | x | |
| Mesures au vignoble (optionnel dans le cadre du stage) | | | | | x |

Références :

- [1] Brisson, N., Gary, C., Justes, E., Roche, R., Mary, B., Ripoche, D., Zimmer, D., Sierra, J., Bertuzzi, P., Burger, P., Bussiere, F., Cabidoche, Y., Cellier, P., Debaeke, P., Gaudillere, J.P., Henault, C., Maraux, F., Seguin, B., Sinoquet, H., 2003. An overview of the crop model STICS. *Europ. J. Agronomy* 18, 309-332.
- [2] Cerovic, Z.G., Moise, N., Goulas, Y., Latouche, G., 2007. Procédé et dispositif de détermination du rapport des teneurs en chlorophylle et en un composé chromophore d'un tissu végétal sans mesurer indépendamment ces teneurs. Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Force-A, Université Paris Sud, France.
- [3] Cola, G., Mariani, L., Salinari, F., Civardi, S., Bernizzoni, F., Gatti, M., Poni, S., 2014. Description and testing of a weather-based model for predicting phenology, canopy development and source-sink balance in *Vitis vinifera* L. cv. Barbera. *Agricultural and Forest Meteorology* 184, 117-136.
- [4] Dufrière, E., Davi, H., François, C., Le Maire, G., Le Dantec, V., Granier, A., 2005. Modelling carbon and water cycles in a beech forest. Part I : Model description and uncertainty analysis on modelled NEE. *Ecological Modelling* 185, 407-436.
- [5] Garcia, O., Debuissson, S., Morlet, M., Germain, C., Panigai, L., Le Moigne, M., Fadaili, E.M., Ben Ghazlen, N., Cerovic, Z.G., 2012. Using Multiplex® to manage nitrogen variability in Champagne vineyards, 11th ICPA, Indianapolis MI USA, pp. 1-10.
- [6] Louarn, G., Lecoœur, J., Lebon, E., 2008. A three-dimensional statistical reconstruction model of grapevine (*Vitis vinifera*) simulating canopy structure variability within and between cultivar/training system pairs. *Annals of Botany* 101, 1167-1184.
- [7] Oyarzun, R.A., Stöckle, C.O., Whiting, M.D., 2007. A simple approach to modeling radiation interception by fruit-tree orchards. *Agricultural and Forest Meteorology* 142, 12-24.
- [8] Prieto, J.A., Louarn, G., Perez Peña, J., Ojeda, H., Simonneau, T., Lebon, E., 2012. A leaf gas exchange model that accounts for intra-canopy variability by considering leaf nitrogen content and local acclimation to radiation in grapevine (*Vitis vinifera* L.) *Plant, Cell and Environment* 35, 1313-1328.
- [9] Rossi, V., Salinari, F., Poni, S., Caffi, T., Bettati, T., 2014. Addressing the implementation problem in agricultural decision support systems: the example of vite.net®. *Computers and Electronics in Agriculture* 100, 88-99.
- [10] Vos, J., Evers, J.B., Buck-Sorlin, G.H., Andrieu, B., Chelle, M., de Visser, P.H., 2010. Functional-structural plant modelling: a new versatile tool in crop science. *Journal of Experimental Botany* 61, 2101-2115.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire :

Interdisciplinary Institute for Neuroscience (IINS), UMR5297, Bordeaux – France

Adresse :

Université de Bordeaux, IINS
146 rue Léo Saignat
33077 Bordeaux, France

Directeur du laboratoire :

Dr. Daniel Choquet

Équipe de recherche (si pertinent) :

Quantitative Imaging of the Cell

Responsable de l'équipe :

Jean-Baptiste Sibarita (jean-baptiste.sibarita@u-bordeaux2.fr)

Responsable de stage :

Dr. Rémi Galland

Adresse électronique :

remi.galland@u-bordeaux.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :

Ecole doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé (ED SVS 154)

Profil recherché :

Je recherche un(e) étudiant(e) en physique ou interface Physique-biologie, motivé(e) par le développement de nouveaux outils de microscopie optique pour la biologie. L'étudiant(e) sera amené(e) à développer des méthodes optiques de façonnage de faisceau laser et de correction d'aberrations optiques, de mettre au point des méthodes de micro-fabrications, et de réaliser et analyser de l'imagerie de super résolution à l'intérieur d'embryons de drosophile.

Possibilité de poursuite en thèse : OUI**Si oui financement envisagé :**

Financement pour 3 ans de thèse obtenue à travers l'ANR JCJC 'soLIVE'

Titre du stage :

Probing the dynamical properties of proteins at different time and spatial scales within complex living tissues.

Résumé :

A PhD position is currently available at the Interdisciplinary Institute for Neuroscience (IINS) at Bordeaux to develop new super-resolution approaches for probing the fast and long-term dynamics of proteins in depth within complex tissues at high spatial resolution. This work will be based on a light-sheet microscope recently developed in the team and named soSPIM, which combines a single-objective with micro-fabricated chips displaying 45° mirrors¹. We already demonstrated the capabilities of this systems to perform multi-scale 3D imaging from the whole drosophila embryos scale down to the single cell scale. In addition, we have shown that the combination of the optical sectioning provided by the light sheet excitation with a high numerical objective enables to perform single molecule based super-resolution up to 30 μm deep above the coverslip.

The aim of the project will be to improve the imaging capabilities of the soSPIM system to probe the various dynamics of adhesion proteins during the development of drosophila embryos at high spatial resolution. It will consist of implementing on the soSPIM system single particle tracking approaches and structured illumination microscopy methods² to probe the fast and long-term dynamics of proteins respectively. To achieve this goal, we will implement both excitation beam shaping³ and adaptive optics⁴ in order to optimize the excitation and detection paths, respectively, and implement specific micro-fabrication processes to create devices dedicated to the imaging of drosophila embryos. In collaboration with G. Giannone team (IINS, Bordeaux) and N. Brown team (Gurdon Institute, Cambridge), we will then study the formation and maturation of adhesion sites during drosophila embryos development and their role in muscle tissue formation.

Required skills:

The candidate should be highly motivated and should show a strong interest in the development of imaging tools for biology. Prior knowledge in optical microscopy and interest in micro-fabrication processes and biology would be preferred.

The candidate is strongly encouraged to perform his Master 2 internship or last year of engineer school internship on this subject before the thesis.

Contact:

To apply, candidates should email a CV and a motivation letter to:

- Rémi Galland (remi.galland@u-bordeaux.fr)

References

1. Galland, R. *et al.* 3D high- and super-resolution imaging using single-objective SPIM. *Nat. Methods* **12**, 641–644 (2015).
2. Gustafsson, M. G. L. Surpassing the lateral resolution limit by a factor of two using structured illumination microscopy. *J. Microsc.* **198**, 82–87 (2000).
3. Chen, B.-C. *et al.* Lattice light-sheet microscopy: Imaging molecules to embryos at high spatiotemporal resolution. *Science (80-.)*. **346**, 1257998–1257998 (2014).
4. Izeddin, I. *et al.* PSF shaping using adaptive optics for three-dimensional single-molecule super-resolution imaging and tracking. *Opt. Express* **20**, 4957–67 (2012).

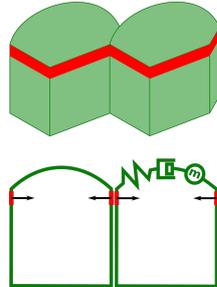
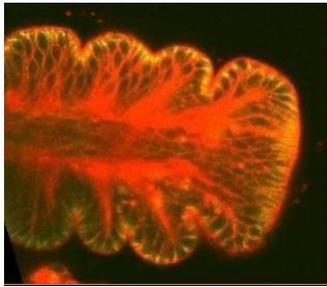
Master 2 internship (2016-2017) and PhD (2017-2020) proposal

Field: *Theoretical and computational soft condensed matter physics and biophysics.*

Laboratory name: [Matière et Systèmes Complexes](#). CNRS identification code: UMR 7057.
Director: Cyprien GAY cyprien.gay@univ-paris-diderot.fr 01 57 27 62 53
<http://www.msc.univ-paris-diderot.fr/~cgay/homepage>
Co-directors: Philippe MARCQ philippe.marcq@curie.fr 01 56 24 64 72
and François MOLINO francois.molino@igf.cnrs.fr 04 67 14 32 08.
Internship location: Paris, laboratoire MSC, [Bâtiment Condorcet](#), Université Paris Diderot.
Thesis possibility after internship: École doctorale 564, Physique en Île-de-France : [EDPIF](#).
Internship funding: usual (legal) funding when longer than two months (ca. 500€/month).
PhD funding possibilities: 1. with École Doctorale (concours), 2. with Région Île-de-France (Institut des Systèmes Complexes), 3. with CIFRE (corporate co-funding).

Physical modeling of a developing biological tissue

Biological tissues, especially during embryogenesis, are a fascinating example of an active material, whose mechanical and structural properties evolve continually. The evolution of these properties result in new shapes (morphogenesis). It is more and more established that mechanical stress in tissues is an essential ingredient of biological signaling: it combines



with chemical signals to let tissue cells locate themselves, which affects their fate (cellular type).

With this internship, our goal is to simulate the behaviour of a few cells in such a tissue for some precise phenomena, in collaboration with a biologist experimental team, depending on opportunities and on the candidate's preferences.

Left: apoptosis drives fold formation in Drosophila leg. Right: simple simulation with actin belt and complex cortex rheology.

One possibility is to focus on apoptosis and on its mechanical role which has been evidenced during Drosophila leg development by a team in Toulouse (Magali Suzanne, see Ref. (1) and photo). We will use a detailed and tunable mechanical model. Our current code contains a non-trivial rheology of the cellular cortex and a dynamic evolution of cell-cell adhesion inspired by molecular mechanisms. The internship will consist in incorporating additional ingredients specific to apoptosis in order to identify those that are essential to reproduce the observed mechanical transformations.

On the long term (thesis work), internal cell mechanisms that are essential to its interaction with neighbouring cells within a tissue will be included gradually. This will be used to specify our generic continuum model (2) and to infer (3) the macroscopic rheology.

The successful candidate will either be familiar with biophysics or soft matter physics, or with applied mathematics and numerical simulations, for instance in C++ or in python and will be eager to interact with experimentalists in order to reorient the simulation ingredients.

(1) B. Monier, M. Gettings, G. Gay, T. Mangeat, S. Schott, A. Guarner, **M. Suzanne**, *Nature* (2015) **518**, 245-248

(2) S. Tlili, C. Gay, F. Graner, **P. Marcq**, **F. Molino**, P. Saramito, *Eur. Phys. J. E* (2015) **38**, 33-63 ; **38**, 115

(3) V. Nier, S. Jain, C. T. Lim, S. Ishihara, B. Ladoux, **P. Marcq**, *Biophys. J.* (2016) **110** (7), 1625-1635



Institut Jacques Monod
15 rue Hélène Brion
75205 Paris cedex 13

PROPOSITION DE STAGE/THÈSE

Laboratoire: team « Mechanotransduction: from Cell Surface to Nucleus » (group leader: Nicolas Borghi) - Institut Jacques Monod - UMR7592 CNRS/Université Paris Diderot - 15 rue Hélène Brion, 75205 Paris cedex 13

Responsable de stage : Philippe Girard (philippe.girard@ijm.fr)

Titre du stage : **Light-sheet fluorescence microscopy for imaging epithelial cysts**

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : GC2iD (Cellular Genetics, Immunology, Infectiology and Development)

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : bourse du ministère ou autre (ARC, ANR)

Résumé : During development, epithelial tissues undergo dramatic changes of cell size, shape and position over time to generate three-dimensional (3D) architectures that are essential for organ function. Aberrant epithelial architecture is most frequently found in the pathogenesis of epithelial tumors, and architectural patterns have been used to diagnose and classify carcinomas. Despite abundant evidence that mechanical forces play a role in controlling epithelial morphogenesis and tumor progression, less is known about the precise mechanisms by which these forces influence cell and tissue fate and how mechanical stimulation induces structural, compositional and functional changes at the cellular and tissue levels.

Most of our current knowledge on how mechanical forces alter cell behavior was enabled by the development of techniques that permit the measurement of cellular forces or the application of controlled force on two-dimensional (2D) cultured cells. However, these 2D techniques cannot be used to measure forces in living tissues in a three-dimensional environment. Moreover imaging these biological systems at the molecular and cellular level in three dimensions remains challenging. Light Sheet Fluorescence Microscopy (LSFM), a recent technique with low bleaching, unprecedented spatial and temporal precision over very long periods of time, addresses most of the challenges of 3D cell biology and can be combined with micromanipulating tools to exert or measure mechanical forces.

In this context, we propose a project to assess the interplay of external geometry and mechanical forces to direct tissue morphogenesis and tumor progression. Our approach integrates organotypic cell culture models (cysts) with leading-edge 3D live-cell imaging (light-sheet fluorescence microscopy) and bioengineering techniques (traction force microscopy and laser dissection) to measure matrix strains, force fluctuations and cellular mechanotransduction at the tissue level. Specifically, the project aims to understand how forces generated between cells and the extracellular matrix (ECM) influence cell orientation and architecture at the tissue, cell and molecular level to regulate tissue homeostasis ?

Profil recherché : The ideal candidate should express an interest for optics, cell biology and engineering and will be in charge to implement the LSFM (already mounted) with laser nano-dissection and 3D traction force microscopy.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Institut de Génomique Fonctionnelle de Lyon (IGFL), ENS Lyon

Adresse : 32-34 avenue Tony Garnier, 69007 Lyon

Directeur du laboratoire : Florence Ruggiero

Équipe de recherche (si pertinent) : Biomodélisation

Responsable de l'équipe : Nicolas Goudemand

Responsable de stage : Nicolas Goudemand

Adresse électronique : nicolas.goudemand@ens-lyon.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED341- Evolution Ecosystèmes Microbiologie Modélisation (E2M2)

Profil recherché : étudiant(e) intéressé(e) par modéliser des phénomènes biologiques. Connaissances en programmation souhaitées.

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Concours de l'école doctorale. Financement interne possible sous conditions.

Titre du stage : Développement d'un modèle de morphogenèse des éléments conodontes

Résumé:

Les conodonts sont un groupe éteint de petits vertébrés marins sans mâchoire. Ils ont dominé les océans pendant environ 300 millions d'années. Les éléments minéralisés qui leur faisaient office de dents (pour plus de détails voir Goudemand et al, 2011, PNAS 108(21):8720-8724) sont des fossiles très importants : ils sont très abondants dans les roches sédimentaires de la fin du Cambrien à la fin du Trias (il y a 500-200 millions d'années) et leur évolution rapide permet de dater les roches et donc de reconstruire les chaînes d'événements passés ; ils sont aussi considérés comme un des meilleurs outils pour la géochimie, ce qui permet de reconstituer les paléo-environnements (températures des océans, conditions redox, etc).

Dans notre groupe, nous cherchons à comprendre les rôles relatifs des changements environnementaux, de l'écologie et du développement dans l'évolution morphologique de ces 'dents'. Nous étudions tout particulièrement le rôle du développement, y compris les propriétés mécaniques des tissus impliqués, par des approches empiriques et théoriques. Nous développons des modèles pour explorer les paramètres importants contraignant l'espace des morphologies possibles.

Le but du stage est de développer l'un de ces modèles en modifiant et en adaptant aux conodontes des algorithmes existants dédiés initialement à l'étude des dents de mammifères.

En fonction de l'avancement du stage, de nombreuses options sont possibles. Le projet peut être étendu et faire ainsi l'objet d'une thèse de doctorat.

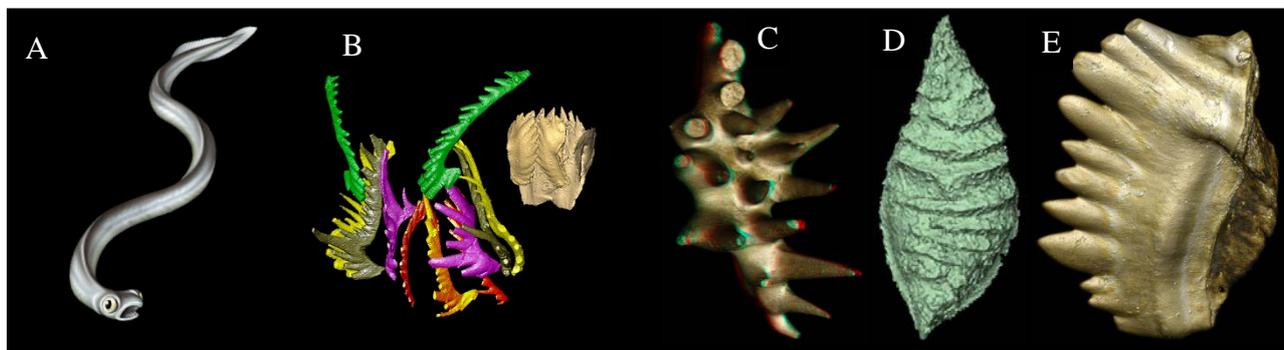


Fig. 1: A: Forme générale des conodontes ; B: Vue antéro-oblique de l'appareil masticatoire ; C, D, E : Exemples de morphologies d'éléments conodontes.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire Interdisciplinaire de Physique
Adresse : 140 rue de la Physique – 38402 St. Martin d'Hères (Grenoble)
Directeur du laboratoire : Jean-Louis Barrat
Équipe de recherche (si pertinent) : Matériaux, Optique et Techniques Instrumentales pour le Vivant
Responsable de l'équipe : Antoine Delon
Responsable de stage : Aurélien Gourrier & Aurélie Dupont
Adresse électronique : Aurelien.Gourrier@univ-Grenoble-alpes.fr
N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : N°47 – Ecole Doctorale de Physique

Profil recherché : Ce projet à l'interface Physique/Médecine s'adresse aussi bien à une personne de culture physique ou matériaux, désirent approfondir ses connaissances en imagerie avec des perspectives biomédicales, qu'à un biologiste possédant de bonnes bases en microscopie souhaitant développer de nouvelles méthodes pour l'étude des réseaux complexes de type neuronal ou vasculaire.

Possibilité de poursuite en thèse : OUI
Si oui financement envisagé : Bourse du ministère
Titre du stage : Imagerie optique nanométrique de la porosité osseuse et dentaire par suivi de particules uniques.

La caractérisation de la porosité osseuse et dentaire à l'échelle microscopique et nanoscopique ($\sim 0.01-100 \mu\text{m}$) représente un challenge biomédical important. Cette porosité résulte de l'activité biologique cellulaire au cours de la formation ou de la réparation du tissu osseux/dentaire et son impact sur les propriétés biomécaniques n'est pas totalement élucidé. Les méthodes utilisées en science des matériaux pour l'imagerie 3D avec des résolutions de $\sim 10-50 \text{ nm}$ (e.g. nanoCT de rayons X, FIB-SEM) sont soit trop localisées pour fournir une vue statistiquement représentative du système, ou ne permettent pas de préserver le tissu vivant. Il existe, donc, des perspectives importantes pour de nouvelles méthodes de microscopie optique super-résolue telle que le suivi de particules uniques (SPT) de type quantum dots ou nanoparticules.

Ce projet de master fait suite à une thèse ayant permis d'acquérir une expertise unique en imagerie optique confocale et non-linéaire pour la caractérisation du réseau cellulaire osseux et dentaire. Bien que les caractéristiques du réseau puissent être évaluées avec précision, la résolution spatiale accessible par ces méthodes est limitée à $\sim 200 \text{ nm}$ transversalement. Une meilleure résolution (50 nm ou moins) est nécessaire pour caractériser les plus petites porosités et obtenir une mesure dimensionnelle plus fiable. Cet objectif pourrait être atteint, en principe, par suivi de fluorophores en concentration diluée dans les porosités suivant le principe des microscopies super-résolues de type PALM/STORM. L'astuce, pour dépasser la limite de diffraction optique, est d'utiliser de petites particules (quantum dots, nanoparticules) dont le suivi dans le temps permet de reconstruire l'environnement local avec une résolution de 10 nm approximativement.

Les objectifs de ce stage seront de :

- définir un protocole d'imagerie par suivi de quantum dots et de nanoparticules d'or.
- d'établir le cadre de traitement des données permettant la reconstruction d'images.
- de valider la preuve de concept pour l'imagerie par SPT de la porosité dentaire.

Cette étude repose, en premier lieu, sur un travail expérimental (préparation d'échantillons, microscopie SPT), combiné avec le traitement d'images pour l'analyse de la porosité multiéchelle.

Le projet sera conduit en proche collaboration avec le laboratoire MSSMat de l'École Centrale de Paris et de l'unité INSERM U1033 de Lyon.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire Interdisciplinaire des Energies de Demain / Matière et Systèmes Complexes

Adresse : Univ. Paris-Diderot

Responsable de stage : José Halloy / François Graner

Adresse électronique : Jose.Halloy@univ-paris-diderot.fr / Francois.Graner@univ-paris-diderot.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : EDPIF

Profil recherché : physicist or engineer

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Ecole Doctorale

Titre du stage : Are leaders useful, and when ?

Résumé :

Numerous experimental and modeling studies provide new insights into the mechanisms of effective leadership and decision-making in actual biological systems, from sheeps to fish schools or starlings. They have begun to establish the link between individual behaviour and collective movement, and to study in detail how a few informed individuals can influence the decision of a large group, for instance to find a shelter or a food source.

This internship, jointly supervised by physicists José Halloy and François Graner, will address a different question, independent of any specific system: [Under which conditions is the presence of one or a few leaders an advantage in term of efficiency, and when is it a drawback?](#) The study will built on numerical simulations of well-defined tasks, for which the efficiency of the collective group response can be quantitatively assayed.

A first step, suitable for an internship, consists in studying a simple task, that of decision to find food. The model used will be based on velocity correlations between neighbours (the classical Vicsek model). The collective efficiency will be measured with respect to one dimensionless parameter, the correlation length to group size ratio, which quantifies the quality of information propagation within the group. It will be simulated both without and with one leader, yielding two increasing curves which intersect. This will enable to determine the type of transition from leader-led to leaderless groups. The same will be repeated for another task, that of quick response to a predator arrival.

More detailed studies, suitable for a PhD thesis, involve both statistical physics and non-linear physics. It will test numerous model ingredients, and the robustness of the results with respect to such changes. Other tasks will include spatial structuration of the group, collective migration, collective building. The efficiency will be measured, at the level both of the individual and of the group, in terms of energy consumption, precision of the asymptotically reached state (either a stationary state or an attractor), convergence type and characteristic time of the transient regime required to reach the final state. A global phase diagram will be progressively established, and compared with analytical studies where the group is considered as a continuous medium.

Different definitions of a leader will be implemented and compared: either informed individual, decision-maker, or quicker-moving individual. The advantages and drawbacks of leader presence will be analyzed in terms of group cohesion, robustness of the decision procedure, and integration of possibly conflicting informations. The number of leader will be varied, and it will even be determined under which conditions leaders could emerge from a preciously undifferentiated group.

This entirely original reasearch combines advanced modelling tools with deeply fundamental questions. It should turn attractive for a creative student, either physicist or engineer, with a taste for programming and cross-disciplines discussions.

« PROPOSITION DE STAGE ET DE THÈSE »

Laboratoire: Centre de Recherche Paul-Pascal (CNRS UPR8641)

Adresse : 115, avenue Schweitzer, 33600 Pessac

Responsable de stage : Eric Grelet

Email : grelet@crpp-bordeaux.cnrs.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED SPI de l'Université de Bordeaux

Profil recherché: Physicien motivé par l'interdisciplinarité et la mobilité géographique (collaborations : Universités d'Oxford (Royaume-Uni), Eindhoven (Pays-Bas), et FZ Jülich (Allemagne))

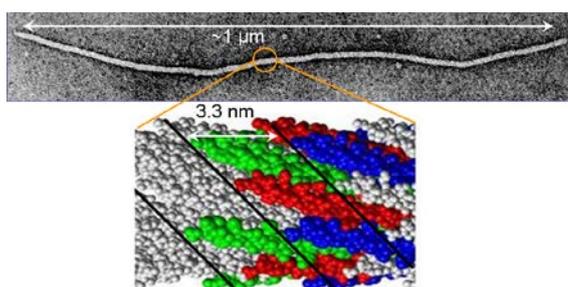
Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Financement envisagé : Collaboration Bordeaux / Oxford

Titre du stage : Formation et manipulation optique d'auto-assemblages viraux modèles

Résumé : L'enjeu du projet est l'étude de l'auto-assemblage de particules biologiques en forme de filament, les bactériophages *fd* (ou M13). Ces virus, inertes pour l'homme, constituent, en raison de leur exceptionnelle uniformité en taille, un système *modèle* pour l'étude de l'auto-organisation de la matière condensée. Un marquage spécifique en fluorescence permet leur visualisation à l'échelle de la particule unique, permettant ainsi des études fondamentales originales, tant sur la structure que la dynamique de l'auto-organisation des phases cristal-liquides. Des techniques de biologie moléculaire maîtrisées au laboratoire permettent également de produire des *mutants*, dont la longueur, la charge, et la flexibilité peuvent être modifiées.

Plus particulièrement, nous souhaitons nous intéresser à l'auto-organisation de virus *fd* en présence de polymères. Ces derniers induisent par effet de déplétion une interaction effective attractive modulable entre les virus, conduisant à des auto-assemblages colloïdaux extrêmement variés (membranes, torsades,...). Dans certaines conditions, des membranes hexagonales sont formées, qui présentent en leur centre l'existence systématique d'un défaut topologique de type dislocation vis (cf. figure ci-dessous). Des premières études ont montré que l'hélicité (droite ou gauche) de ces défauts est corrélée avec celle des particules virales. Nous établirons dans un premier temps l'ensemble du diagramme de phases (en jouant sur la taille et la nature des polymères), puis nous étudierons par des techniques de microscopie optique (fluorescence & DIC), par diffraction des rayons X et cryo-fracture la cinétique de formation de ces membranes topologiquement frustrées, et chercherons ainsi à comprendre la connexion entre chiralité microscopique et auto-assemblages hélicoïdaux mésoscopiques. Enfin, nous chercherons à manipuler ces auto-assemblages grâce à des pincettes optiques, en visant à la fois le contrôle des défauts initiaux par la lumière, ainsi que la fusion et l'assemblage de membranes préformées.



Virus fd observé en microscopie électronique associé à une représentation schématique de sa surface (gauche) et membrane hexagonale d'une dizaine de µm de diamètre avec dislocation vis observée en microscopie optique (droite) obtenue par interaction de déplétion entre les virus colloïdaux.

Références :

- E. Grelet, S. Fraden, *Phys. Rev. Lett.* 90, 198302 (2003).
- F. Tombolato, A. Ferrarini, E. Grelet, *Phys. Rev. Lett.* 96, 258302 (2006).
- M.P. Lettinga, E. Grelet, *Phys. Rev. Lett.* 99, 197802 (2007).
- E. Grelet, *Phys. Rev. Lett.* 100, 168301 (2008).
- Z. Zhang, N. Krishna, M.P. Lettinga, J. Vermant, E. Grelet, *Langmuir* 25, 2437 (2009).
- E. Pouget, E. Grelet, M.P. Lettinga, *Phys. Rev. E* 84, 041704 (2011).
- N. Puech, *et al. Phys. Rev. Lett.* 108, 247801 (2012).
- Z. Zhang, E. Grelet, *Soft Matter* 9, 1015 (2013).
- S. Naderi, E. Pouget, P. Ballesta, P. van der Schoot, M.P. Lettinga, E. Grelet, *Phys. Rev. Lett.* 111, 037801 (2013).
- E. Grelet, *Phys. Rev. X* 4, 021053 (2014).
- E. Grelet, R. Rana, *Soft Matter* 12, 4621 (2016).

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Département de Chimie de l'École Normale Supérieure

Adresse : ENS – 24 rue Lhomond – 75005 PARIS

Directeur du laboratoire : Ludovic Jullien

Responsable de l'équipe : Zoher Gueroui

Responsable de stage : Zoher Gueroui

Adresse électronique : zoher.gueroui@ens.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :

Profil recherché : Biophysicien -- Biologiste -- Physico-Chimiste

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé :

Titre du stage : Building artificial and functional organelles to control cellular functions

Résumé :

Our team is combining tools and concepts from Synthetic Biology, Biophysics, and Cell Biology to decipher the spatiotemporal dynamics controlling complex biochemical reactions essential for cellular functions. We are currently developing two novel approaches to examine the spatiotemporal regulation of translation and signaling pathways for cell-fate determination.

1. Building artificial, dynamic, and functional organelles to control cellular functions

Novel multidisciplinary approaches have recently emerged from biophysics, cell biology, and biochemistry, providing paradigm-shifting advances in how the morphogenetic properties of diverse membrane-less organelles could originate (see references). We have developed a synthetic biology approach to produce artificial organelle-like structures in cells on demand. Our main objective is to correlate the physical properties of such organizations with emergent biological functions.

References:

Getting RNA and protein in phase. Weber SC, Brangwynne CP. *Cell*. 2012

Phase transitions in the assembly of multivalent signalling proteins. Li P *et al. Nature*. 2012

Formation and Maturation of Phase-Separated Liquid Droplets by RNA-Binding Proteins. Lin Y, Protter DS, Rosen MK, Parker R. *Mol Cell*. 2015

Expanding the synthetic ribonucleoprotein world in cells. Endo K, Parr C, Saito H. *Nat Methods*. 2014

2. Magnetic control of translation using nanoparticles

To better understand the impact of the regulation of translation for cellular functions, one potential approach is to design artificial genetic circuits to be tested in living cells. We have developed an approach that integrate magnetic nanoparticles and biological molecules to combine both the functional properties of native ribonucleoproteins and their capability of being manipulated in space and time using magnetic forces. Our approach examines how physical constraints can alter translation activity.

References:

Spatiotemporal control of microtubule nucleation and assembly using magnetic nanoparticles. Hoffmann C, Mazari E, Lallet S, Leborgne R, Marchi V, Gosse C, Gueroui Z. *Nat. Nanotechnol.*, 2013.

Mammalian synthetic circuits with RNA binding proteins for RNA-only delivery. Wroblewska L, Kitada T, Endo K, Siciliano V, Stillo B, Saito H, Weiss R. *Nat Biotechnol*. 2015

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire: UMR 8640 « PASTEUR »

Adresse : Département de Chimie, Ecole Normale Supérieure, 24 rue Lhomond, Paris

Directeur du laboratoire : Ludovic Jullien

Équipe de recherche (si pertinent) : Groupe d'Electrochimie – Applications biologiques des Ultramicroélectrodes

Responsable de l'équipe : Olivier Buriez - Christian Amatore

Responsable de stage : Frédéric Lemaître / Manon Guille-Collignon

Adresse électronique : frederic.lemaitre@ens.fr, manon.guille@ens.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED 388 Chimie Physique et Chimie Analytique de Paris Centre

Profil recherché: Compétences en optique fluorescente, biophysique et fusion des membranes, techniques de salle blanche et éventuellement connaissances/intérêt pour la caractérisation électrochimique (un plus mais non obligatoire)

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Bourse Ecole Doctorale ou DIM en Sciences Analytiques d'Ile de France ou Centre de Recherches Interdisciplinaires FdVPhD Program

Titre du stage : Analyse de l'exocytose par détection combinée fluorescence-électrochimie

Résumé

L'exocytose vésiculaire est un moyen ingénieux utilisé par la Nature pour permettre à une cellule de communiquer et de transmettre des informations à son entourage. A ce titre, des molécules messagers (hormones, neurotransmetteurs...) sont préalablement encapsulées dans des vésicules de sécrétion qui fusionnent avec la membrane cellulaire puis déversent leur contenu dans le milieu extracellulaire (**Figure 1**).

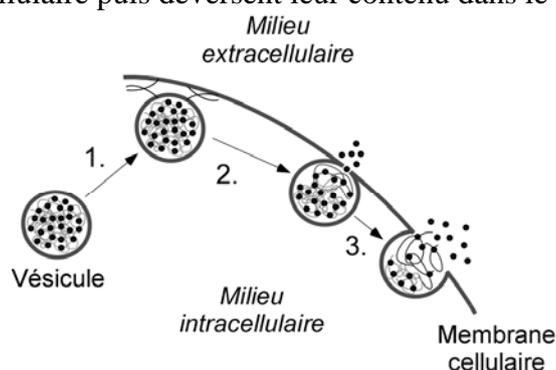


Figure 1. Représentation schématique d'un événement d'exocytose vésiculaire.

Si les principales étapes du mécanisme de l'exocytose sont bien identifiées, beaucoup de questions restent en suspens en particulier les facteurs de contrôle de la libération par l'organisme. Dans ce contexte, le développement de techniques analytiques sensibles et avec une excellente résolution temporelle représente l'un des enjeux de cette problématique.[1] Dans ce contexte, nous avons développé au laboratoire ces dernières années une détection combinée de l'exocytose sur cellule unique impliquant l'électrochimie (ampérométrie sur ultramicroélectrode) et fluorescence (microscopie à onde évanescente).[2] Cette détection permet de suivre des événements d'exocytose dans leur intégralité (de l'arrivée de la vésicule à sa libération)

mais nécessite encore de nombreuses améliorations, en particulier l'utilisation d'une sonde électrofluorescente.

Techniques ou méthodes utilisées

Le(a) candidat(e) sera amené(e) à étudier l'apport de certaines sondes électrofluorescentes (« faux neurotransmetteurs fluorescents »[3]) au sein du couplage électrochimie – fluorescence (**Figure 2**). Les techniques expérimentales seront donc particulièrement variées. Il s'agira en effet d'étudier les propriétés électrochimiques et spectroscopiques de la sonde et sa faculté à être internalisée par les cellules. L'utilisation du couplage proprement dit fera appel à la microfabrication de dispositifs à base d'électrodes transparentes et conductrices. Enfin, l'acquisition couplée en électrochimie-fluorescence et l'analyse des données (corrélation entre flashes de fluorescences et pics de courant) représenteront aussi un aspect important de l'étude.

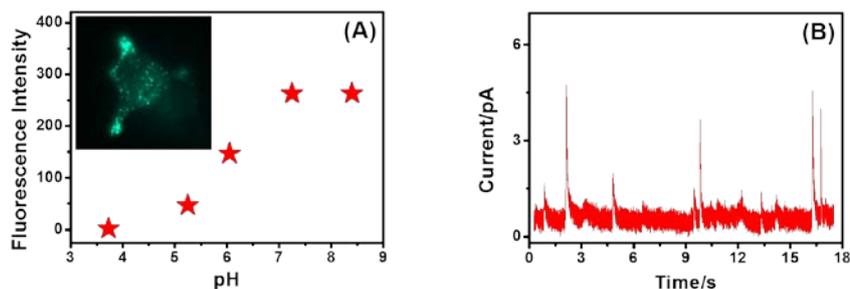


Figure 2. A) Intensité de fluorescence d'un faux neurotransmetteur fluorescent "FFN102" ($\lambda_{ex} = 405$ nm) à différentes valeurs de pH en milieu aqueux. La photographie en haut à gauche représente une cellule de type BON au sein de laquelle les vésicules ont été marqués par FFN102. B) Détection de la libération par ampérométrie d'une cellule BON dont les vésicules contiennent FFN102.

Références

[1] C. Amatore et al. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2585.

[2] A. Meunier et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 5081.

[3] N. G. Gubernatore et al. *Science* **2009**, *324*, 1441; M. Lee et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 8828.

Laboratoire: **Genetics and Developmental Biology (U934/UMR3215)**

Adresse: **Institut Curie, 11 rue Pierre et Marie Curie, 75005 Paris**

Directeur: **Edith Heard**

Equipe de recherche: **Polarity, Division and Morphogenesis**

Site internet: <http://tinyurl.com/InstitutCurieTeamBellaiche>

Responsable de l'équipe: **Yohanns Bellaïche**

Responsable du stage: **Boris Guirao**

eMail: boris.guirao@curie.fr; yohanns.bellaiche@curie.fr

N° et intitulé de l'école doctorale: **EDs 515 CdV & 474 FdV**

Profil recherché: **Etudiant à l'interface Physique/Biologie**

Possibilité de poursuivre en thèse: **Oui**

Financement envisagé: **ANR et Ministère**



institutCurie



From cells to tissues: interplay between gene expression, cell behaviors and tissue dynamics

The mechanisms governing the acquisition of the size and shape of an organism or an organ are complex and remain largely unknown. A better understanding of growth and morphogenesis requires: (i) an accurate characterization of elementary cell behaviors such as division, death, rearrangements and changes in cell size and shape, and to relate them to local tissue deformation; (ii) measurements of the forces involved in tissue development; (iii) a better understanding of the coupling between physical constraints and biological processes and their regulations.

We recently developed a set of methods that enables to image, quantify and relate the elementary cell behaviors and tissue deformation, and also to estimate the forces acting in the tissue [1]. Our approach already helped us relate genetics and mechanics and bridge the subcellular, cellular and tissular scales during *Drosophila* development [1-4]. This now makes possible the in-depth study of the interplays between gene expression, regulators of the cell cortex, elementary cell behaviors, tissue deformation and forces.

The topics of the master internships we propose include: (i) the study of the biophysical factors controlling cell death during tissue development; (ii) the study of the biophysical factors influencing the rate and orientation of divisions; (iii) the study of spatio-temporal cross-correlations between cell behaviors, tissue deformation, junctional stress, cortex regulators and gene expression maps. More closely related to the multiscale formalism characterizing morphogenesis at cell and tissue scales that we recently developed [1]: (iv) further formalism developments and validation; comparison with existing ones; (v) formalism implementation in 3D to characterize development of generic 3D cohesive tissues.

As we regularly collaborate with several groups (F. Graner, MSC, Paris V; K. Sugimura, Kyoto U.; V. Greco, Yale U.; ...), additional projects are available. The proposed master projects may be followed by a PhD thesis.

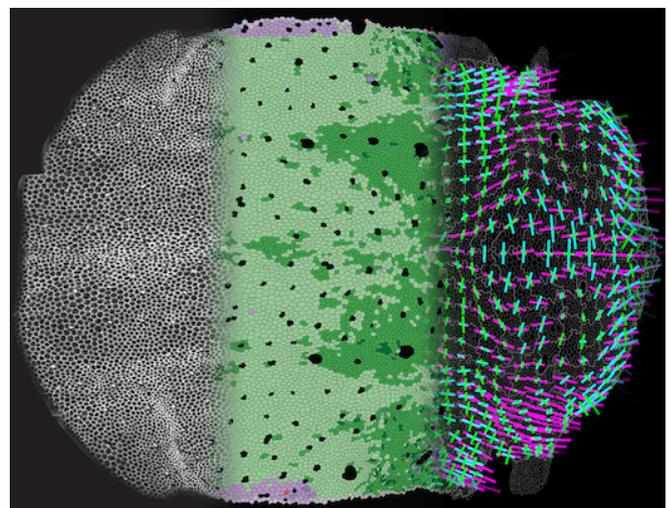


Illustration of the successive steps in the quantitative characterization of cell and tissue dynamics during the morphogenesis of the *drosophila* dorsal thorax epithelium [1].

References

1. Guirao, B., et al., *Unified quantitative characterization of epithelial tissue development*. eLife, 2015. **4**: p. e08519.
2. Bosveld, F., et al., *Mechanical Control of Morphogenesis by Fat/Dachsous/Four-Jointed Planar Cell Polarity Pathway*. Science, 2012. **336**(6082): p. 724-727.
3. Bardet, P.-L., et al., *PTEN Controls Junction Lengthening and Stability during Cell Rearrangement in Epithelial Tissue*. Developmental Cell, 2013. **25**(5): p. 534-546.
4. Bosveld, F., et al., *Epithelial tricellular junctions act as interphase cell shape sensors to orient mitosis*. Nature, 2016. **530**(7591): p. 495-8.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire de chimie des processus biologique, CNRS FRE3488 collège de France.

Adresse : 11 Place Marcelin Berthelot 75231 Paris Cedex 05

Directeur du laboratoire : Pr Marc Fontecave

Équipe de recherche (si pertinent) :

Responsable de l'équipe :

Responsable de stage : Dr Hamdane Djemel

Adresse électronique : djemel.hamdane@college-de-france.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED515 complexité du vivant

Profil recherché : biologie structurale/biophysique/biochimie/physicien/chimiste

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Concours bourse école doctorale

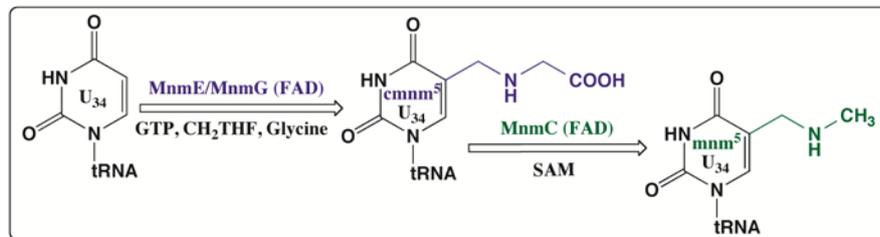
Titre du stage : Etude de la voie de biosynthèse de la 5-méthylaminométhyle uridine 34 des ARNs de transfert chez *Escherichia Coli*

Résumé :

Etude de la voie de biosynthèse de la 5-méthylaminométhyle uridine 34 des ARNs de transfert chez *Escherichia Coli*

1-Presentation du Sujet : Parmi les différentes catégories d'acides ribonucléiques (ARN) cellulaires, les ARN de transfert (ARNt) jouent un rôle-clef dans la synthèse des protéines. Les ARNt servent d'adaptateurs nécessaires à la traduction du message porté par l'ARNm, en une chaîne d'acides aminés (la protéine). Pour ce faire, les ARNt ont une structure bien particulière : une feuille de trèfle en 2 dimensions ou une forme en L en 3 dimensions. Pour maintenir cette structure et pour que la traduction se fasse correctement, les ARNt possèdent en plus des nucléosides canoniques adénosine (A), guanosine (G), uridine (U) et cytidine (C) de nombreux nucléosides modifiés. Ces modifications peuvent être simples, par exemple l'ajout d'un groupement méthyle, ou plus complexes donnant lieu à des nucléosides appelés complexes hypermodifiés. Ces modifications d'ARNt sont catalysées par des enzymes de modification. Certaines de ces modifications requièrent la présence dans l'enzyme d'un cofacteur biologique, la flavine. Notre travail vise à étudier le mécanisme enzymatique de certaines enzymes de modifications notamment celles qui catalysent des réactions dépendantes de la flavine (1-3).

Le but du stage de M2 consistera en l'étude du mécanisme enzymatique de la biosynthèse de la 5-méthylaminométhyle uridine (mnm^5U_{34}) présente en position 34 de certains ARNt chez *Escherichia coli*. Cette modification dite complexe est très importante chez les bactéries mais aussi chez l'homme pour assurer le maintien d'une traduction fidèle et efficace. En effet, chez l'homme, la perte de cette modification dans certains ARNt conduit à des pathologies neuronales importantes. Chez *Escherichia coli*, la biosynthèse de cette modification fait intervenir 3 enzymes (2 flavoenzymes à FAD MnmG et MnmC et une enzyme faisant partie de la famille des protéines G, MnmE) et requière du GTP, du méthylentetrahydrofolate (CH_2THF), de la glycine et de la SAM.



2-Techniques/méthodes utilisées : HPLC, spectrométrie de masse, fluorescence, dichroïsme circulaire, spectroscopie UV/visible, isothermale calorimétrie, stopped-flow, cristallographie aux rayons X.

3-Résultats attendus : Nous exprimerons et purifierons dans un premier temps, les 3 enzymes recombinantes d'E. coli, MnmE, MnmG et MnmC dans un système bactérien. Dans un deuxième temps, nous produirons par transcription *in vitro* les ARNts substrats. Nous testerons les activités de chacune des enzymes *in vitro* et détecterons les métabolites par HPLC et spectrométrie de masse. Nous nous efforcerons de déterminer le rôle précis de la flavine et tenterons de mettre en évidence des intermédiaires réactionnels en utilisant diverse approche biophysiques (spectrophotométrie UV-visible, fluorescence, ITC, dichroïsme circulaire et stopped-flow) et biochimiques. Enfin dans le but de comprendre le mécanisme enzymatique de chacune des enzymes à l'échelle moléculaire, nous tenterons d'obtenir des structures 3 D des enzymes seules ou en complexes avec un ARNt substrat par une approche cristallographique. Il est à noter que ce sujet pluridisciplinaire s'inscrit parfaitement au niveau de l'interface physique / chimie / biologie et permettra au candidat d'acquérir de solides compétences en biochimie et biophysique des protéines.

4-References

(1) A catalytic intermediate and several flavin redox states stabilized by folate-dependent tRNA methyltransferase from *Bacillus subtilis*.

Hamdane D, Guerineau V, Un S, Golinelli-Pimpaneau B.
Biochemistry. 2011 Jun 14;50(23):5208-19.

(2) Insights into folate/FAD-dependent tRNA methyltransferase mechanism: role of two highly conserved cysteines in catalysis.

Hamdane D, Argentini M, Cornu D, Myllykallio H, Skouloubris S, Hui-Bon-Hoa G, Golinelli-Pimpaneau B.
J Biol Chem. 2011 Oct 21;286(42):36268-80.

(3) FAD/folate-dependent tRNA methyltransferase: flavin as a new methyl-transfer agent.

Hamdane D, Argentini M, Cornu D, Golinelli-Pimpaneau B, Fontecave M.
J Am Chem Soc. 2012 Dec 5;134(48):19739-45.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Centre Interdisciplinaire de Nanoscience de Marseille (CINaM)

Adresse : CINaM, CNRS UMR7325 – Campus de Luminy, Case 913 – 13288 Marseille cedex 9

Directeur du laboratoire : Frédéric FAGES

Équipe de recherche (si pertinent) : Groupe « Physique et micro-nano Ingénierie pour le Vivant »
Département Science et Technologie des Nano-Objets

Responsables dans l'équipe : Anne CHARRIER, Emmanuèle HELFER, Kheya SENGUPTA, Annie VIALLAT

Responsable de stage : Emmanuèle HELFER, Annie VIALLAT

Adresse électronique : helfer@cinam.univ-mrs.fr, viallat@cinam.univ-mrs.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED352, Physique et Sciences de la Matière

Profil recherché : Physicien, avec notions de biologie ou forte volonté d'ouverture vers la biologie

Possibilité de poursuite en thèse : OUI - NON

Si oui financement envisagé : Allocation de Recherche par l'ED 352

Titre du stage : Réponse à la contrainte mécanique dans les maladies du vieillissement prématuré : de la cellule individuelle à l'agrégat multicellulaire

Résumé :

Contexte :

Le vieillissement cellulaire, ou sénescence, correspond à un déclin progressif des fonctions cellulaires. Quand elle est prématurée, la sénescence cellulaire peut provoquer un vieillissement accéléré des patients. Nous nous intéressons ici au **processus de vieillissement prématuré lié spécifiquement à des anomalies de l'enveloppe du noyau**. Celle-ci est une membrane complexe constituée de lipides et protéines, supportée par une structure bidimensionnelle ancrée sur sa face intérieure, la lamina, elle-même constituée de protéines de la famille des lamines. La lamina est responsable de la forme du noyau et de sa stabilité mécanique. Une mutation du ou des gènes codants pour les lamines conduit à des maladies appelées laminopathies. Certaines laminopathies se traduisent par un vieillissement prématuré (la Progeria en est l'une des formes les plus graves). Une des hypothèses est que **les mutations dans les protéines de la lamina affectent les propriétés mécaniques de l'enveloppe nucléaire**, rendant les noyaux, et donc les cellules, plus fragiles, provoquant ainsi une accélération du vieillissement, en particulier dans les tissus stressés mécaniquement.

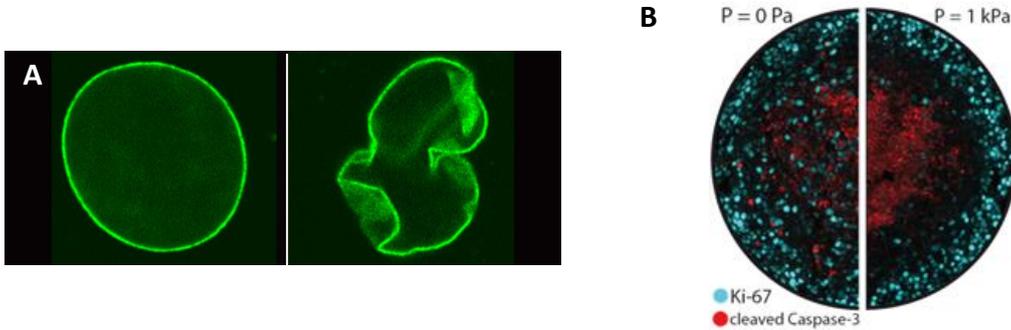
Projet :

Nous travaillons sur un groupe de patients atteints de Syndrome Métabolique sévère (collaboration Prof. C. Badens, Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital d'enfants de La Timone, Marseille), qui souffrent de divers symptômes typiques d'un vieillissement accéléré (diabète, problèmes cardio-vasculaires) et présentent des mutations dans les lamines et des anomalies de forme du noyau cellulaire. Nous proposons d'étudier l'effet de ces mutations sur la réponse à une sollicitation mécanique des cellules de ces patients, *à l'échelle individuelle et à l'échelle multicellulaire*.

- A l'échelle de la cellule, nous étudierons les propriétés mécaniques du noyau extrait de sa cellule ou du noyau dans son environnement (cellule entière) soit par une technique d'aspiration par micropipette, soit par des techniques de microfluidique. Le deuxième système permet de soumettre les noyaux/cellules à diverses déformations en les faisant passer à travers des constriction de taille variable contrôlée, et sous flux contrôlé. A l'aide de drogues, nous pouvons détruire partiellement le cytosquelette (actine, microtubules) pour découpler la réponse du noyau de celle du cytoplasme.

- A l'échelle multicellulaire, nous observerons le comportement d'un agrégat de cellules (collaboration G. Cappello, Equipe MOTIV, Laboratoire Interdisciplinaire de Physique, Grenoble). Les cellules seront cultivées de façon à former ce qu'on appelle des sphéroïdes, qui peuvent être soumis à une contrainte externe isotrope (pression du milieu environnant). Nous observerons la croissance et la morphologie des sphéroïdes, la multiplication des cellules et leur mortalité à la surface et à l'intérieur des sphéroïdes, avec et sans contrainte.

Les différences de comportements individuel et collectif entre les cellules saines et les cellules mutées permettront de mieux comprendre le processus de vieillissement des cellules soumises à un stress mécanique.



(A) Noyaux cellulaires d'un individu sain (à gauche) et d'un patient atteint de Progeria (à droite). (B) Images en microscopie de fluorescence de sphéroïdes contraint sous pression (à droite) ou non (à gauche) : les cellules en bleu prolifèrent alors que les cellules en rouge sont entrées en apoptose (mort cellulaire).

Mots Clés : mutation génétique, lamina, propriétés mécaniques des noyaux, agrégats multicellulaires, microfluidique, stress isotrope

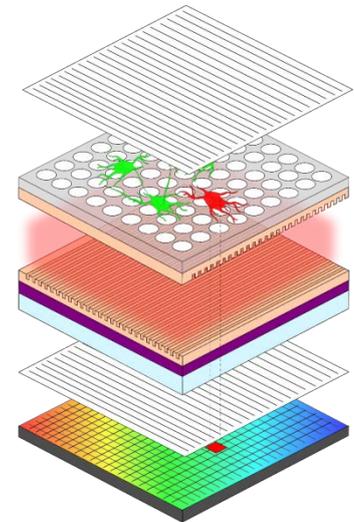


Electro optical transducer for neural activity monitoring

In vitro neural networks have proven great potential in neuroscience to provide minimalist yet relevant models to mimic the complexity of human brain circuits. Monitoring the activity of neurons in such systems both at large scale (1M+ neurons) and at single cell resolution represents a major challenge in neuro-engineering to fully decipher the brain information processing. Current techniques are not suitable to monitor the activity of the entire network (because of the field of view limitations) and at a single cellular level without harming neurons. Our team aims at developing a new neural activity monitoring technique, based on an original concept of transducer coupled to a CMOS sensor directly.

Objectives and detailed work:

A first study based on an electrical model has been carried out showing the theoretical feasibility of the concept, thus leading to the development of the transducer (patent pending). Although a first configuration of the transducer has been tested, the objective of the intern is to continue developing the technological steps of fabrication of the transducer and implement it in order to allow its future interfacing with neurons. The student will have to fully fabricate the device in clean room, and test other configuration or materials that could improve its characteristics. If successful, the transducer will be interfaced with rat primary hippocampal neurons (extracted by dissection) and the intern will evaluate and characterize its ability to read out neural activity by coupling experiments with optogenetic stimulation of the cultured cells. The student will be integrated in a junior team in close collaboration with Grenoble institute of Neuroscience and Cinatec facilities. This project is supported by the European Commission.



3D stack of the transducer interfaced with neurons

Future possibility:

Ph.D. with national grant. High grades required in M1/M2.

Student profile:

Master 2 in engineering, microtechnology or biotechnology. A strong taste for fabrication and interdisciplinary experiments are recommended.

| | | | |
|--------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|---------------------------|
| Position open in: | Early 2017 | Salary: | Official internship rates |
| Duration: | 6 months | | |
| Contact: | Dr. Thibault HONEGGER Laboratoire des Technologies de la Microélectronique – CNRS c/o CEA LETI, 17 rue des Martyrs, 38054, Grenoble Phone: + 33 4 38 78 90 62 Mail: thibault.honegger@cnrs.fr | | |

Neuronal growth controlled by AC electrical fields on chip

Most brain diseases are caused by neuronal degeneration and loss of specific neuronal connections. These include chronic disorders such as neurodegenerative diseases but also acute injury, such as cerebrovascular accidents. We lack an effective therapeutic approach to delay such a degeneration, or to stimulate the regrowth of neurons after a massive loss. Our group develops BioMEMS for neuroscience. We have recently shown that an alternative current (AC) electrical field can be used to guide the growth of neurons¹. The same technique has potential for therapeutic applications.

Objectives and detailed work:

In close collaboration with a postdoctoral researcher, the student will develop, fabricate and characterize chips with embedded electrodes for neurons growth stimulation. The chip will be fabricated in the CEA cleanroom by the student. Using primary hippocampal neurons freshly extracted from rats, he will then evaluate the effect of characteristics of AC electrical fields (frequency, amplitude) on speeding up their growth on chips. He will take an active part in the cell culture and in the observation by fluorescent imaging. In parallel a theoretical model of the effect of electrical fields on neurons should be developed. In the future this technique has potential to be tested *in vivo* on rats before moving to human. This work will be in close collaboration with the Institute of Neuroscience of Grenoble.

Future possibility:

PhD position available for high graded students.

Student profile:

Master 2 in engineering, microtechnology or biotechnology. A strong taste for fabrication and interdisciplinary experiments are recommended.

Position open in: Early 2017 **Salary:** Official internship rates

Duration: 6 months / more if extended to M2

Contact: Dr. Thibault HONEGGER

Laboratoire des Technologies de la Microélectronique – CNRS

c/o CEA LETI, 17 rue des Martyrs, 38054, Grenoble

Phone: + 33 4 38 78 90 62

Mail: thibault.honegger@cnrs.fr

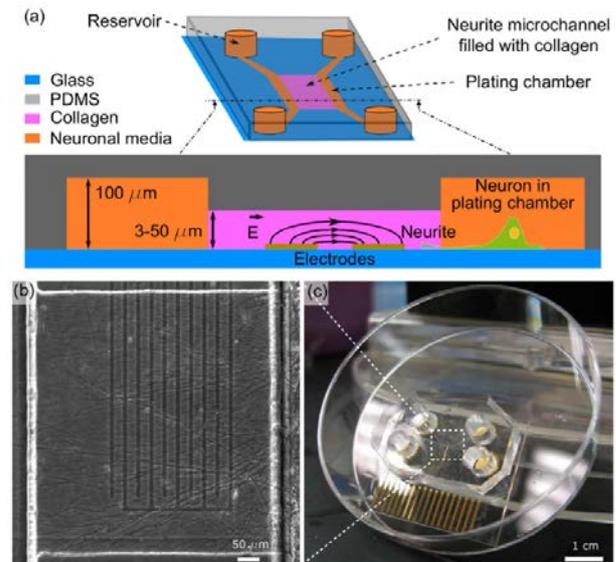


Figure 1: Electro-microfluidic chip. From ref 1.

¹ Honegger T. et al, Microfluidic neurite guidance to study structure-function relationships in topologically complex population-based neural networks, *Sci Rep.*,6:28384, 2016.

Microfluidic chip to model ischemia/reperfusion on neurons

Brain diseases are caused by neuronal degeneration progressive loss of specific neuronal connections. These include chronic disorders such as neurodegenerative diseases but also acute injury, such as cerebrovascular stroke. We lack an effective therapeutic approach to delay such degenerative process, or to stimulate the regrowth of neurons after a massive loss. Our group develops microfluidic devices to model such degenerations process both to better understand their process and to find potential new cures (Figure 1).

Objectives and detailed work:

In close collaboration with neuroscientists, the student will develop, fabricate and characterize microfluidic chips to model ischemia/reperfusion degenerative processes on neural cultures. The chip will be fabricated in the CEA cleanroom by the student. Using optical methods allowing to monitor oxygen tension, she/he will then evaluate the oxygen depletion and reperfusion in the neuronal chamber. Using primary hippocampal neurons freshly extracted from rats, she/he will monitor the effect of oxygen depletion on matured neural cultures survival. She/he will take an active part in the cell culture and in the observation by fluorescent imaging. In parallel a theoretical model of the effect of gaz depletion in the chip should be developed. This work will be in close collaboration with a neuroscience laboratory in Paris and she/he will have to make travels between Grenoble and Paris.

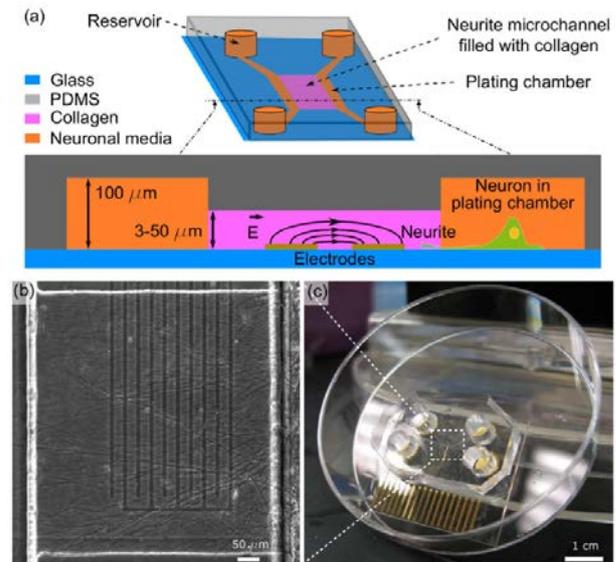


Figure 1: Example of microfluidic chip with neural cultures [1].

Future possibility:

PhD position available for high graded students.

Student profile:

Master 2 in engineering, microtechnology or biotechnology. A strong taste for fabrication and interdisciplinary experiments are recommended.

| | | | |
|--------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|---------------------------|
| Position open in: | Early 2017 | Salary: | Official internship rates |
| Duration: | 6 months | | |
| Contact: | Dr. Thibault HONEGGER Laboratoire des Technologies de la Microélectronique – CNRS c/o CEA LETI, 17 rue des Martyrs, 38054, Grenoble Phone: + 33 4 38 78 90 62 Mail: thibault.honegger@cnrs.fr | | |

¹ Honegger T. et al, Microfluidic neurite guidance to study structure-function relationships in topologically complex population-based neural networks, Sci Rep.,6:28384, 2016.

Proposition de STAGE / PHD

Laboratoire: Synchrotron SOLEIL

Adresse: L'orme des merisiers, Synchrotron SOLEIL, 91190 Gif sur Yvette

Directeur du laboratoire: J. Daillant

Équipe de recherche (si pertinent): Ligne de lumière DISCO

Responsable de l'équipe: Matthieu Réfrégiers

Responsable de stage: Frederic Jamme

Adresse électronique: frederic.jamme@synchrotron-soleil.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement: ED « Interfaces » de l'Université Paris-Saclay

Profil recherché :

Biochimiste/Biophysicien avec intérêt pour la microscopie SHG

Possibilité de poursuite en thèse: oui (si financement obtenu)

Si oui, financement envisagé: Contrat doctoral IDEX - IDI

Titre du stage: fibrillogenèse de collagène par microscopie multiphotonique et Synchrotron UV

Résumé:

Le collagène est une protéine jouant le rôle de brique élémentaire dans la construction et l'architecture de nombreux tissus biologiques. Un nombre important de pathologies observées lors du développement, de la cicatrisation ou associées au cancer produisent des défauts dans cette architecture. Il est possible d'étudier l'organisation du collagène dans des tissus intacts et sans marquage à l'aide du signal de second harmonique (SHG). Cependant, de part la nature cohérente du signal SHG, la quantification de ce signal lumineux (de fréquence double de la lumière incidente) est difficile et controversée. En effet, l'intensité du signal SHG est liée à l'alignement des molécules de collagène au sein d'une fibrille dont les signaux individuels interfèrent ainsi de manière constructive et destructive.

En utilisant le rayonnement synchrotron de la ligne DISCO avec une excitation dans l'ultra-violet profond, les molécules de collagène et en particulier les liaisons « cross-link » entre les molécules sont directement détectables par un signal d'autofluorescence. Ainsi le signal détecté est proportionnel aux nombres de molécules et donc directement quantifiable. Il se trouve que la quantité de « cross-link » peut être reliée au degré d'avancement de certaines pathologies.

Cette étude sera menée en complément de nos recherches en cours sur le diagnostic de la stéatohépatite non-alcoolique (Non-Alcoholic Steatohepatitis, NASH) en collaboration avec le Dr. S Kascakova (U Univ. Paris-Sud 11, UMR-S785, F-94800 Villejuif, France) et sur la sarcoïdose, maladie multi systémique de cause inconnue, en collaboration avec le Dr. D. Bazin (Laboratoire de Chimie de la Matière Condensée de Paris, UPMC, Collège de France, Paris).

Références :

- Giuliani, A., Jamme, F., Rouam, V., Wien, F., Giorgetta, J.-L., Lagarde, B., ... Réfrégiers, M. (2009). DISCO: a low-energy multipurpose beamline at synchrotron SOLEIL. *J. Synchrotron Rad.*, 16, 835–841.
<http://doi.org/10.1107/S0909049509034049>
- Jamme, F., Kascakova, S., Villette, S., Allouche, F., Pallu, S., Rouam, V., & Réfrégiers, M. (2013). Deep UV autofluorescence microscopy for cell biology and tissue histology. *Biology of the Cell*, 105(7), 277–288.
<http://doi.org/10.1111/boc.201200075>
- Zubkovs, V., Jamme, F., Kascakova, S., Chiappini, F., Le Naour, F., & Réfrégiers, M. (2014). Single vs. two photon microscopy for label free intrinsic tissue studies in the UV light region. *The Analyst*, 139(11), 2663–7.
- Bancelin, S., Aimé, C., Coradin, T., & Schanne-Klein, M.-C. (2012). In situ three-dimensional monitoring of collagen fibrillogenesis using SHG microscopy. *Biomedical Optics Express*, 3(6), 1446.
- Ranjit, S., Dvornikov, A., Stakic, M., Hong, S.-H., Levi, M., Evans, R. M., & Gratton, E. (2015). Imaging Fibrosis and Separating Collagens using Second Harmonic Generation and Phasor Approach to Fluorescence Lifetime Imaging. *Scientific Reports*, 5(April), 13378.
- Bancelin, S., Aimé, C., Gusachenko, I., Kowalczyk, L., Latour, G., Coradin, T., & Schanne-Klein, M.-C. (2014). Determination of collagen fibril size via absolute measurements of second-harmonic generation signals. *Nature Communications*, 5, 4920.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire: TIMC-IMAG, University Grenoble-Alpes & Laboratoire de Physique ENS Lyon

Adresse : Pavillon Taillefer, 38706 La Tronche & Allée d'Italie, 69007 Lyon

Responsable de stage : Daniel JOST & Cédric VAILLANT

Email : daniel.jost@imag.fr & cedric.vaillant@ens-lyon.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : EDISCE & EDPHAST

Profil recherché: Physique statistique, physique des polymères, simulations numériques

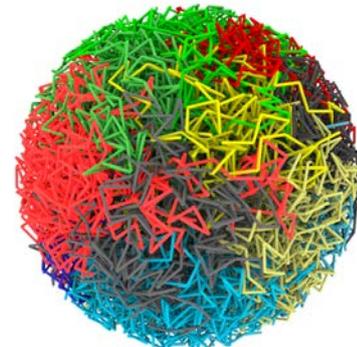
Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Financement envisagé : Bourse doctorale

Titre du stage : Polymer physics of human chromosome folding

Résumé : *Context:* Inside the cellular nucleus, DNA is tightly packed into a polymer-like structure called chromatin. The 3D organization of chromatin is not random and distinct patterns of contacts between chromatin loci are observed. Recently, we propose and test that such organization is mainly driven in fly by the profile of the local biochemical states (the epigenomic state) along the chromatin through physical contact-interactions. In mammals, it is likely that other mechanisms like interactions with the nuclear membrane play important roles in chromosome folding.

Objectives: In this project, we aim to develop polymer models and corresponding numerical simulations to better understand the mechanisms behind 3D organization in human cells. Based on our previous works, the student will have to develop a model that incorporates two main ingredients: self-interaction between monomers of the same (epigenomic) state and interaction with a 2D surface (the nuclear membrane). Characterization of the phase diagram of the system will help us to understand the importance of each ingredient of the model into the 3D chromatin organization. Quantitative comparisons with experimental data (from our collaborator G. Cavalli, IGH, Montpellier, France) on normal and senescent cells will be performed to test the prediction power of the model.



Expected results: We expect this project to give new insights into the mechanisms controlling the 3D chromosome organization in human. In particular, application of our formalism to senescent cells will allow to better understand aging of nuclear organization that is likely to have a strong impact on gene expression. Moreover, original physical effects may arise from such very long polymer having 3D and 2D interactions.

References: Jost et al, Nucleic Acids Res 42: 9541 (2014). Olarte-Plata et al, Phys Biol 13: 026001 (2016). Imakaev et al, FEBS Lett 589: 3031 (2015).

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire: TIMC-IMAG, University Grenoble-Alpes & Laboratoire de Physique ENS Lyon

Adresse : Pavillon Taillefer, 38706 La Tronche & Allée d'Italie, 69007 Lyon

Responsable de stage : Daniel JOST & Cédric VAILLANT

Email : daniel.jost@imag.fr & cedric.vaillant@ens-lyon.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : EDISCE & EDPHAST

Profil recherché: Physique statistique, systèmes dynamiques, simulations numériques

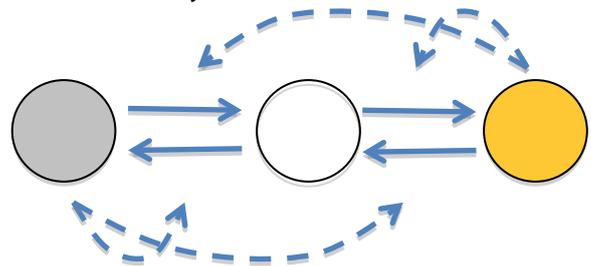
Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Financement envisagé : Bourse doctorale

Titre du stage : Stochastic modeling of epigenetic regulation

Résumé : *Context:* All the cells of a multicellular organism contain the same genetic information but differ by their shapes, their physiologies and their functions. These differences result from specific patterns of gene expression, which largely rely on biochemical tags, the so-called epigenetic marks, that are deposited on top of the genetic information. Failure of preserving the proper epigenetic mark profiles might result in inappropriate gene activity and diseases like cancer. Despite its importance, the mechanisms behind the establishment and maintenance (heritability) of the epigenome and the mechanisms by which it fulfills its function (activation/repression) remain largely to be elucidated.

Objectives: Current models of epigenome assembly mainly consider a “spin-like” chain model where chromatin can adopt several internal states (for example Active/Repressive). The stochastic dynamics of this state is assumed to be driven by the interplay between random and cooperative transitions. Dynamical properties are then computed via stochastic simulations to extract phase and bifurcation diagrams as a function of the model parameters. The general objective of the internship and thesis will be to implement and refine such models in order to make quantitative predictions of the epigenome regulation or deregulation as observed in various concrete biological systems, ranging from the heterochromatin inheritance in yeast to the DNA methylation deregulation in cancer cells.



Expected results: We expect this project to give new insights into the mechanisms controlling epigenetic regulation. In particular, application of our formalism to cancerous cells will allow to better understand the deregulation mechanisms leading to gene expression instability. Moreover, original physical effects may arise from such Ising-like model with long-range interactions and limited number of up-spins.

References: Dodd et al, Cell 129: 813 (2007). Jost, Phys Rev E 87: 010701 (2014). Zerihun et al, Phys Biol 12: 026007 (2015). Ranganathan et al, Science 348 (2015).

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire: TIMC-IMAG, University Grenoble-Alpes & Laboratoire de Physique ENS Lyon

Adresse : Pavillon Taillefer, 38706 La Tronche & Allée d'Italie, 69007 Lyon

Responsable de stage : Daniel JOST & Cédric VAILLANT

Email : daniel.jost@imag.fr & cedric.vaillant@ens-lyon.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : EDISCE & EDPHAST

Profil recherché: Physique statistique, physique des polymères, simulations numériques

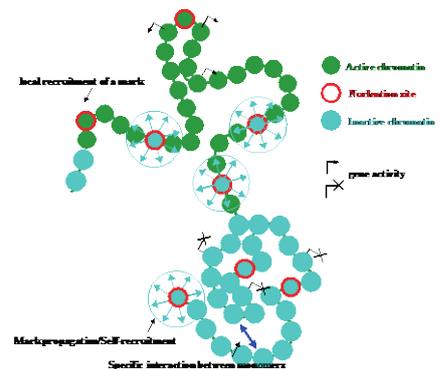
Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Financement envisagé : Bourse doctorale

Titre du stage : Coupling 3D organization to local biochemical state dynamics: application to chromatin folding

Résumé : *Context:* Inside the cellular nucleus, DNA is tightly packed into a polymer-like structure called chromatin. The 3D organization of chromatin is not random and distinct patterns of contacts between chromatin loci are observed. Recently, we propose and test that such organization is mainly driven by the profile of the local biochemical states (the epigenomic state) along the chromatin through physical contact-interactions. In this previous work, we hypothesized that such profile was constant. However, increasing number of experimental evidence suggests that the local state is highly dynamic and that 3D organization might play an important role in the establishment and stabilization of the epigenomic state.

Objectives: In this project, we aim to better understand the crosstalk between 3D chromatin organization and the epigenomic state dynamics by introducing a generic modular framework, the living chromatin model, that allow to couple the polymeric properties of the chromatin to the local fluctuations of the biochemical state. Based on our previous works, the student will have to develop the general formalism. After analyzing the generic physical properties of the model on toy examples, the student will apply the formalism to concrete biological examples like the phenomenon of dosage compensation of sexual X chromosomes in worms (in collaboration with the experimental group of Peter Meister, University of Bern) or the heterochromatization of telomeres in yeasts (in collaboration with the experimental group of Angela Taddei, Institut Curie, Paris). In particular, the student will have the opportunity to visit our collaborators to learn and perform experiments using cell-imaging techniques for example.



Expected results: The living chromatin model is an original formalism that is modular and applicable to many different biological contexts where structure and function are coupled. We expect such formalism to answer generic and specific questions about the relation between 3D chromatin organization and the epigenomic state.

References: Jost, Phys Rev E 87: 010701 (2014). Olarte-Plata et al, Phys Biol 13: 026001 (2016). Sharma et al, Genes Dev 28: 2591 (2014).

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire: TIMC-IMAG, University Grenoble-Alpes

Adresse : Pavillon Taillefer, 38706 La Tronche

Responsable de stage : Daniel JOST

Email : daniel.jost@imag.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : EDISCE

Profil recherché: Physique statistique, simulations numériques

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Financement envisagé : Bourse doctorale

Titre du stage : **Maximum entropy models for gene regulation: development and application to lung cancer**

Résumé : *Context:* All the cells of a multicellular organism contain the same genetic information but differ by their shapes, their physiologies and their functions. These differences result from specific patterns of gene expression, which largely rely on biochemical tags, the so-called epigenetic marks, that are deposited on top of the genetic information. Failure of preserving the proper epigenetic mark profiles might result in inappropriate gene activity and diseases like cancer. As it becomes more and more clear that epigenetics is central in cancer, a major challenge of cancer computational biology is to analyze how epigenetic deregulation effectively affects gene expression and predicts prognosis. In this project, we propose to address this point by investigate the deregulation of the interaction network between the epigenetic marks and gene transcription specifically in lung cancer which represent the most common form of cancer in the world today.

Objectives: In this internship, the student will have to develop statistical – data-driven- models based on the maximum entropy principle to infer the interaction network between epigenetic and gene regulations. Such models, closed to the well known Ising model in Physics, allow to describe quantitatively the experimental data. A challenging part of the internship will be to develop efficient inference scheme to estimate the model parameters (the inverse Ising problem). After validation of the method on in silico data, the student will apply it to data obtained from normal and cancerous tissues. A statistical comparison between the two interaction networks will be performed and will lead to the identification of genomic region that are likely to be epigenetically deregulated in cancerous tissues. This project will be done in close collaboration with biologists and doctors (S. Khochbin , E. Brambilla, IAB, Grenoble).

Expected results: We expect this work to improve our understanding of the relationship between epigenetic marks and gene expression in cancer, but also to develop new inference scheme of the inverse Ising problem useful for different applications.

References: Decelle et al, Phys Rev E 94: 012112 (2016). Lezon et al, PNAS 103: 19033 (2006). Guetierrez-Arcelu et al, ELife 2:e00523 (2013). George et al, Nature 524: 47 (2015).

« PROPOSITION DE STAGE M2 »

Laboratoire : Jean Perrin UPMC CNRS UMR8237

Adresse : 4, place Jussieu, 75005 PARIS Tour 32-33, 4^{ème} étage

Directeur du laboratoire : Didier Chatenay

Équipe de recherche (si pertinent) : Biophotonique : trafic intra et inter cellulaire

Responsable de l'équipe : Stéphanie Bonneau/Frédéric Joubert

Responsable de stage : Frédéric Joubert

Adresse électronique : frederic.joubert@upmc.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED388 Chimie physique et chimie analytique de Paris Centre

Profil recherché : biophysicien/ physico-chimiste/biochimiste

Possibilité de poursuite en thèse : OUI - NON

Si oui financement envisagé : école doctorale

Titre du stage : Membranes biomimétiques pour l'étude des mitochondries

Résumé : Les membranes biologiques, leur composition et leur structuration jouent un rôle clef dans de nombreuses voies de signalisation cellulaire et dans le fonctionnement de certains systèmes enzymatiques. La mitochondrie constitue un bon exemple de cette relation structure/fonction : la présence d'invaginations membranaires (les crêtes mitochondriales) dans lesquelles la production d'ATP a lieu (via la F1F0 ATPsynthase) permet d'optimiser le fonctionnement de l'organite et de répondre aux besoins et aux stress de l'organisme. L'existence d'un phospholipide spécifique des mitochondries, les cardiolipides, pourrait jouer un rôle déterminant dans la formation de ces crêtes.

L'objectif du stage est de mettre au point un système modèle « biomimétique » permettant de rendre compte des propriétés des membranes mitochondriales. Pour cela, nous formons des vésicules lipidiques de type GUV (Giant Unilamellar Vesicle), avec des compositions lipidiques variées, et dans lesquelles nous insérons la F1F0 ATPsynthase purifiée. L'idée est de suivre sur ces objets les changements morphologiques des membranes (en contraste de phase ou en fluorescence) lorsque l'enzyme est activée, mais aussi comprendre comment une structuration de la membrane peut influencer le fonctionnement de cette enzyme. Dans ce contexte, le rôle des cardiolipides sera particulièrement étudié.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire PMMH, ESPCI

Adresse : 10 rue Vauquelin, 75005 Paris

Directeur du laboratoire : Philippe PETITJEANS

Responsable de l'équipe/ de stage : Evelyne KOLB en collaboration avec
Marie-Béatrice Bogeat-Triboulot, UMR INRA/UL 1137, INRA Nancy-Lorraine et Université de Lorraine
Valérie Legué, UMR INRA/UBP 547 PIAF

Email : evelyne.kolb@upmc.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : EDPIF (ED564)

Profil recherché : bio-physicien, physicien

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : Ecole doctorale

Titre du stage : Croissance racinaire dans une assemblée d'obstacles

Résumé :

Le développement du système racinaire est une composante essentielle dans la croissance et le fonctionnement des plantes terrestres. Outre ses fonctions de nutrition, le système racinaire assure l'ancrage mécanique de la plante au sol. Tout en limitant l'érosion des sols, les racines constituent également une source de matière organique capitale pour le maintien de la fertilité du sol et y permettent le stockage du carbone.

Des études récentes menées sur la morphogénèse du méristème (zone de prolifération cellulaire) apical des parties aériennes de la plante illustrent clairement que l'organisation des cellules méristématiques est le résultat de contraintes mécaniques de l'environnement. En comparaison, il n'existe pratiquement pas d'études similaires sur l'organisation du méristème racinaire, du fait de la difficulté d'observer *in situ* la morphologie de la racine qui croît généralement dans un système opaque et inhomogène comme un sol. A l'échelle de l'organe racinaire, le sol est un milieu discontinu dont la structure est hétérogène spatialement et temporellement (successions de pores et d'agrégats de taille et rigidité variables, qui peuvent éventuellement se réorganiser comme dans un milieu granulaire (Fig.1)), représentant des obstacles pour la racine en croissance. En retour, lors de sa progression, la racine en croissance est capable de développer des forces mécaniques considérables (Fig.2) et de modifier, déstructurer ou réorganiser le sol ou substrat environnant.

Dans le substrat modèle (type milieu granulaire) que nous envisageons de mettre en place, la racine unique sera confrontée à un parcours d'obstacles (tel celui de la Fig.3), fixes ou mobiles, et dont les dimensions, la densité, la forme et la rigidité pourront être modifiés et complexifiés pour s'approcher progressivement d'un sol réel. Des approches de micro- ou milli-fluidique (substrats de plots de PDMS ou de gels plus ou moins réticulés) ou des techniques d'imprimante laser ou 3D seront mises en œuvre pour créer des obstacles divers dans des substrats artificiels transparents. Un système d'observation nous permettra de réaliser un suivi spatio-temporel des trajectoires progressives, des paramètres de croissance et de morphologie de la racine pour quantifier la réponse de la racine à son environnement mécanique. L'enjeu sera ensuite d'identifier les zones tissulaires de la racine impactées par les variations de contraintes mécaniques, en mettant à profit la techniques de suivi cinématique de la racine en imagerie infra-rouge utilisée au laboratoire de l'INRA de Nancy [thèse Bizet F.] (Fig.4), nous mesurerons les taux de déformations locaux de la racine et identifierons précisément l'extension et la localisation des zones d'élongation et méristématique et en déduirons si les processus cellulaires (division, élongation) sont impactés par les changements de contraintes mécaniques.



Fig. 1: Croissance d'une racine dans un milieu granulaire 2D. Le diamètre de la racine est comparable à la taille des grains (de l'ordre du mm).

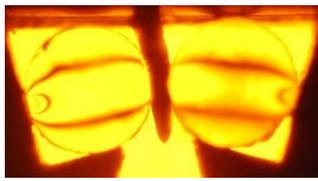


Fig. 2 : Croissance d'une racine de pois-chiche ($\phi \approx 1$ mm) entre deux disques photoélastiques. La force latérale exercée par la racine sur les disques est mesurable à partir de la localisation des franges noires dans les disques [Kolb et al., Plant Soil, 2012].

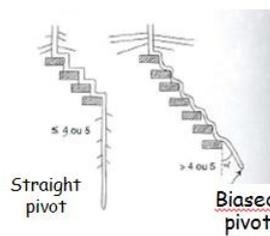


Fig. 3: Observations qualitatives sur des racines d'arbres [d'après Institut pour le développement forestier]. Différentes trajectoires de croissance sont possibles en fonction du nombre d'obstacles rencontrés par la racine.



Fig.4 : Imagerie d'une racine en proche IR [d'après thèse de F. Bizet, 2014. Nancy].

M2 INTERNSHIP or THESIS PROPOSAL

Laboratory name: Laboratory Gulliver, ESPCI
CNRS identification code: UMR 7083
Internship director's surname: David LACOSTE
e-mail: david.lacoste@espci.fr
Web page: <http://www.pct.espci.fr/~david/>
Internship location: Laboratory Gulliver, ESPCI

Phone number: 01 40 79 51 40

Thesis possibility after internship: YES
Funding: Ecole doctorale EDPIF

Uncertainty relation for non-equilibrium fluctuations in biological systems

Today, a mature theory of Thermodynamics is available, based on the solid mathematics of Stochastic processes, called Stochastic Thermodynamics. This theory is able to predict the statistical properties of fluctuations, in small or large systems arbitrarily far from equilibrium. The fundamental observables of non-equilibrium systems are currents, and their statistics has been the focus of intense research for many years. Recently, a set of thermodynamic uncertainty relations have been obtained [1] and then proven rigorously using large deviation theory [2]. These relations constrain the fluctuations of all currents by the dissipation. As a result, these relations express a fundamental trade-off between precision and dissipation, which could be a central design principle for living systems. Indeed, living systems seek to achieve selectivity for their function and reproduction, but this comes only at a thermodynamic cost (see extensive literature on the specificity of chemical reactions in the context of proofreading for instance).

Inspired by these developments, we have recently derived analogous uncertainty relations for equilibrium systems, which also contain a trade-off, albeit of a different kind [3]. During this internship/thesis, we propose to continue our exploration of this topic by investigating further consequences of the non-equilibrium uncertainty relations. We want to explore particularly systems described by continuous dynamics of the Langevin/Fokker Planck type, which have many applications for experimental systems. One of such applications, concerns the fluctuations of gene expression, which are now accessible to single cell experiments in for instance *E. coli*.

To summarize, basic knowledge on Langevin/Fokker Planck equations is required for this internship, knowledge of more advanced topics like large deviation theory is not required. However, a curiosity towards the application of Statistical Physics ideas to biological systems would be a plus.

References:

- [1] A. C. Barato and U. Seifert, Thermodynamic uncertainty relation for bimolecular processes, *Phys. Rev. Lett.* 114, 158101 (2015).
- [2] T. R. Gingrich, J. M. Horowitz, N. Perunov and J. England, Dissipation bounds all steady-state current fluctuations, *Phys. Rev. Lett.* 116, 120601 (2016).
- [3] J. Guioth and D. Lacoste, Thermodynamic bounds on equilibrium fluctuations of a global or local order parameter, <https://arxiv.org/abs/1610.04739>

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Institut Jacques Monod

Adresse : Batiment Buffon, 15 rue Helène Brion, 75013 Paris

Directeur du laboratoire :Giuseppe Baldacci

Équipe de recherche (si pertinent) :Cell Adhesion and Mechanics

Responsable de l'équipe :Benoit Ladoux/René-Marc Mège

Responsable de stage :Benoit Ladoux

Adresse électronique :benoit.ladoux@ijm.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :ED PIF

Profil recherché : Physicien

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : ANR ou ED

Titre du stage : Mechanical control of epithelial cell death and extrusion

Résumé : The control of tissue growth, which is a key to maintain the protective barrier function of the epithelium, depends on the balance between cell division and cell extrusion rates. Cells within confluent epithelial layers undergo cell extrusion, which relies on cell-cell interactions and acto-myosin contractility. Although it has been reported that cell extrusion is also dependent on cell density, the contribution of tissue mechanics, which is tightly regulated by cell density, cell-cell junctions and cell polarization, to cell extrusion is still poorly understood. By measuring the multi-cellular dynamics and traction forces, we plan to analyze how epithelial cell mechanical properties lead to the emergence of possible distinct modes of cell extrusion. Our study may provide a quantitative and robust framework to explain how internal stress within epithelial tissues may contribute to the mechanism of cell extrusion. We will particularly focused on the role of cell-cell junctions and their remodelling during epithelial gap closure following cell extrusion. The project is at the interface between physics, engineering and cell biology. In particular, we propose to develop soft lithography techniques, particle imaging velocimetry (PIV) and mechanical measurements to determine the role of mechanical and geometrical constraints on cell processes. Such approaches will be combined with molecular and cell biology techniques to probe the role of cell-cell junctions and cytoskeleton contractility. Our team is highly interdisciplinary with half physicists and half biologists. Our project will be done in collaboration with theoreticians to develop adequate physical models.

Références:

L. Kocgozlu, T. B. Saw, A. P. Le, M. Shagirov, E. Wong, R-M. Mège, C. T. Lim, Y. Toyama, B. Ladoux, Epithelial cell packing induces distinct modes of cell extrusions, *Current Biology*, In Press (2016).
A. Ravasio, V. Tarle, A. P. Le, T. B. Saw, H. T. Ong, C. Bertocchi, R.-M. Mège, C. T. Lim, N. Gov, **B. Ladoux**, Emergence of varying collective motions driven by proliferation pressure, cell cohesion and cell substrate adhesion, *Integrative Biology*, 7, 1228-1241 (2015).
A. Ravasio, I. Cheddadi, T. Chen, T. Pereira, H. T. Ong, C. Bertocchi, A. Brugues, A. Jacinto, A. J. Kabla, Y. Toyama, X. Trepate, N. Gov, L. Almeida & **B. Ladoux**, Tissue geometry dictates epithelial closure efficiency, *Nature Communications* 6, 7683 (2015).

Collaborations :

J. Yeomans, Oxford University, UK
CT. Lim and Y. Toyama, MBI, Singapore
P. Marcq, Institut Curie, France

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire de Physique des Solides CNRS UMR 8502

Adresse : Bât. 510 Université Paris Sud

Directeur du laboratoire : Sylvain RAVY

Équipe de recherche (si pertinent) : SOBIO (Structure et dynamique d'objet biologiques auto-assemblés)

Responsable de l'équipe : Françoise LIVOLANT

Responsable de stage : Amélie LEFORESTIER

Adresse électronique : amelie.leforestier@u-psud.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED 569 École Doctorale Innovation Thérapeutique : du fondamental à l'appliqué

Profil recherché : Biophysicien(ne) expérimentateur(trice)

Possibilité de poursuite en thèse : OUI - ~~NON~~

Si oui financement envisagé : ED

Titre du stage : 3D organization of bacteriophage DNA by cryo-electron tomography

Résumé :

Cryo-electron microscopy (cryo-EM) has recently emerged as a tool of choice to explore biological matter (from isolated molecules to cells) at high resolution¹.

We are working on tailed bacteriophages, bacterial viruses formed by a double stranded DNA molecule compressed inside an icosahedral protein capsid. The question of the organization of the genome inside the capsid is a key element to understand how it can be transferred efficiently to the bacteria during the infection. It is established that DNA is highly confined to reach near-crystalline densities and that segments of the chain are hexagonally packed locally, but the higher order organization remains unknown and many models have been proposed over the years.

Quasi-atomic 3D structures of bacteriophage protein components (capsid, tail and portal complex) have been obtained by cryo-EM, by averaging thousands of images of particles with different orientations. This powerful approach is well adapted to identical objects (such as capsids), but it is far less relevant for the analysis the DNA fold, which is unique to each individual. We have analysed the variety of patterns observed in non-averaged images of the bacteriophage T5 (121 kbp of DNA in a capsid 80 nm in diameter, with interhelix spacings $a_H = 26.4 \text{ \AA}$), and showed that DNA is arranged into hexagonal domains separated by numerous defects^{2,3} (Figure 1a).

Our objective is to elucidate its 3D organisation by cryo-electron tomography of individual particles. We recently collected very promising tomograms at the structural biology facility of the IGBMC (Strasbourg), equipped with the new generation of microscope and direct electron detector. Reconstructions of the tomograms let us recognize the DNA hexagonal lattice with a good enough resolution along the X and Y axes (Figure 1b).

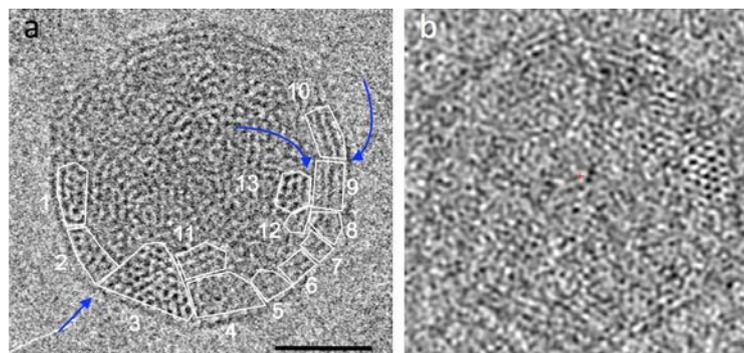


Figure 1. (a) 2D cryo-EM image of a T5 bacteriophage. The DNA arrange into hexagonal domains (in white) separated by defect walls (blue arrows). (b) Section in the 3D reconstruction of a cryo-electron tomogram. The hexagonal lattice is visualized where DNA molecules are oriented in the z direction. Scale bar = 25 nm.

¹ Eisenstein (2016) « The field that came in from the cold » *Nature Methods* 13, 19–22.

² Leforestier & Livolant (2010) *J. Mol. Biol.* 396, 384–95.

³ De Frutos et al. (2016) *J. Phys. Chem. B*, 120, 5975–86.

We propose an internship dedicated to this analysis. Two aspects will be considered:

- i) Tomogram reconstruction and data analysis, with:
 - determination of the best reconstruction algorithm to detect the DNA lattice (back projection, iterative)
 - tomogram segmentation and identification of the local path of the DNA
 - determination of the orientation of the hexagonal lattice within the capsid
- ii) Acquisition of new series of cryo-tomograms to bypass the limitations of the available data :
 - the resolution along the Z direction is not yet sufficient to visualise the hexagonal lattice in this direction. We will collect a series of data using a double tilt acquisition scheme to improve the Z resolution.
 - the signal/noise ration is low. We will collect data using the newly installed “Volta phase plate” device at the IGBMC, which .

A week’s access to the IGBMC facility in 2017 has been obtained. It is a unique opportunity to access high-end cryo-EM equipments.

This internship could be extended to a PhD thesis, including in particular *in vivo* aspect of DNA packaging inside bacteriophages capsids.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Unité de Bioinformatique Structurale

Adresse : Institut Pasteur, 25, rue du Dr Roux F-75015

Directeur du laboratoire : Michael Nilges

Équipe de recherche (si pertinent) : Dynamique fonctionnelle des protéines

Responsable de l'équipe : Thérèse Malliavin

Responsable de stage : Thérèse Malliavin

Adresse électronique : therese.malliavin@pasteur.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED515 "Complexité du vivant", Université Pierre et Marie Curie

Profil recherché : Physique computationnelle; Bioinformatique structurale

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Concours Ecole Doctorale "Complexité du vivant"

Titre du stage : Etude par échantillonnage augmenté des interactions impliquant des modifications post-traductionnelles de l'histone H3

Résumé :

La biologie structurale intégrative s'appuie sur le développement de nombreuses approches expérimentales pour déterminer des structures de complexes moléculaires de plus en plus gros. Mais, un défi reste la modélisation correcte des interactions au niveau atomique, ainsi que la connection de cette modélisation au réseau des interactions protéine-protéine au sein de la cellule. Ce défi se heurte à la complexité: (i) de l'espace conformationnel de chaque protéine et, (ii) des interactions intermoléculaires dans la cellule.

Les modifications post-traductionnelles (PTM) jouent un rôle majeur dans les interactions entre biomolécules (Csizmok, 2016), ce projet est consacré à la modélisation des interactions médiées par ces modifications. Nous nous intéresserons à l'histone H3 pour laquelle plusieurs structures contenant des modifications post-traductionnelles en complexe avec d'autres protéines, ont été déterminées (Li et al, 2016; Zhang et al, 2016). Nous utiliserons des approche de dynamique moléculaire et d'échantillonnage augmenté (Ghanakota, 2016; Andersen, 2015; Cavalli, 2015; Maragliano, 2010; Ikebe, 2016; Cortes-Ciriano et al, 2015) pour arrimer les groupes chimiques correspondant aux PTM sur la surface de la protéine partenaire, ainsi que pour favoriser les transitions conformationnelles des protéines permettant un meilleur positionnement du group PTM. Le but du projet est, à partir de conformations des deux partenaires isolés, de retrouver la structure du complexe.

Références:

Andersen OJ, Grouleff J, Needham P, Walker RC, Jensen F. Toward an Enhanced Sampling Molecular Dynamics Method for Studying Ligand-Induced Conformational Changes in Proteins. (2015) J Phys Chem B 119, 14594-145603.

Cavalli A, Spitaleri A, Saladino G, Gervasio FL. (2015) Investigating drug-target association and dissociation mechanisms using metadynamics-based algorithms. Acc Chem Res 48, 277-285.

Cortes-Ciriano I, Bouvier G, Nilges M, Maragliano L, Malliavin TE. (2015) Temperature Accelerated Molecular Dynamics with Soft-Ratcheting Criterion Orients Enhanced Sampling by Low-Resolution Information. J Chem Theory Comput 11, 3446-3454.

Csizmok V, Follis AV, Kriwacki RW, Forman-Kay JD. (2016) Dynamic Protein Interaction Networks and New Structural Paradigms in Signaling. *Chem Rev* 116(11):6424-62

Duclert-Savatier N, Bouvier G, Nilges M, Malliavin TE. (2016) Building Graphs to describe Dynamics, Kinetics and Energetics in the D-ALA:D-Lac Ligase VanA. *J Chem Inf Model.* 56(9):1762-75.

Ghanakota P, Carlson HA. (2016) Moving Beyond Active-Site Detection: MixMD Applied to Allosteric Systems (2016) *J Phys Chem B* 120(33):8685-95.

Hosseini Naveh ZM, Malliavin TE, Maragliano L, Cottone G, Ciccotti G. (2014) Conformational changes in acetylcholine binding protein investigated by temperature accelerated molecular dynamics. *PLoS One* 9, e88555.

Ikebe J, Sakuraba S, Kono H. H3 Histone Tail Conformation within the Nucleosome and the Impact of K14 Acetylation Studied Using Enhanced Sampling Simulation. (2016) *PLoS Comput Biol* 12, e1004788.

Li, Y.Y., Sabari, B.R., Panchenko, T., Wen, H., Zhao, D., Guan, H.P., Wan, L., Huang, H., Tang, Z., Zhao, Y., Roeder, R.G., Shi, X., Allis, C.D., Li, H.T. (2016) Molecular Coupling of Histone Crotonylation and Active Transcription by AF9 YEATS Domain. *Mol.Cell* 62: 181-193

Maragliano L, Cottone G, Ciccotti G, Vanden-Eijnden E. (2010) Mapping the network of pathways of CO diffusion in myoglobin. *J Am Chem Soc.* 132, 1010-1017.

Zhang, Q., Zeng, L., Zhao, C., Ju, Y., Konuma, T., Zhou, M.M. (2016) Structural Insights into Histone Crotonyl-Lysine Recognition by the AF9 YEATS Domain. *Structure* 24: 1606-1612

Mots-clés: dynamique moléculaire; échantillonnage augmenté de l'espace conformationnel des protéines; modification post-traductionnelle; interaction protéine-protéine

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (LIPhy)

Adresse : 140 rue de la Physique, 38400 Grenoble

Directeur du laboratoire : Jean-Louis Barrat

Responsable de stage : Philippe Marmottant

Adresse électronique : philippe.marmottant@univ-grenoble-alpes.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : Ecole doctorale de Physique de Grenoble

Profil recherché : Etudiant à l'interface physique/biologie.

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : candidature à l'école doctorale de Physique de Grenoble, sur concours

Titre du stage : Physique de la cavitation dans les arbres

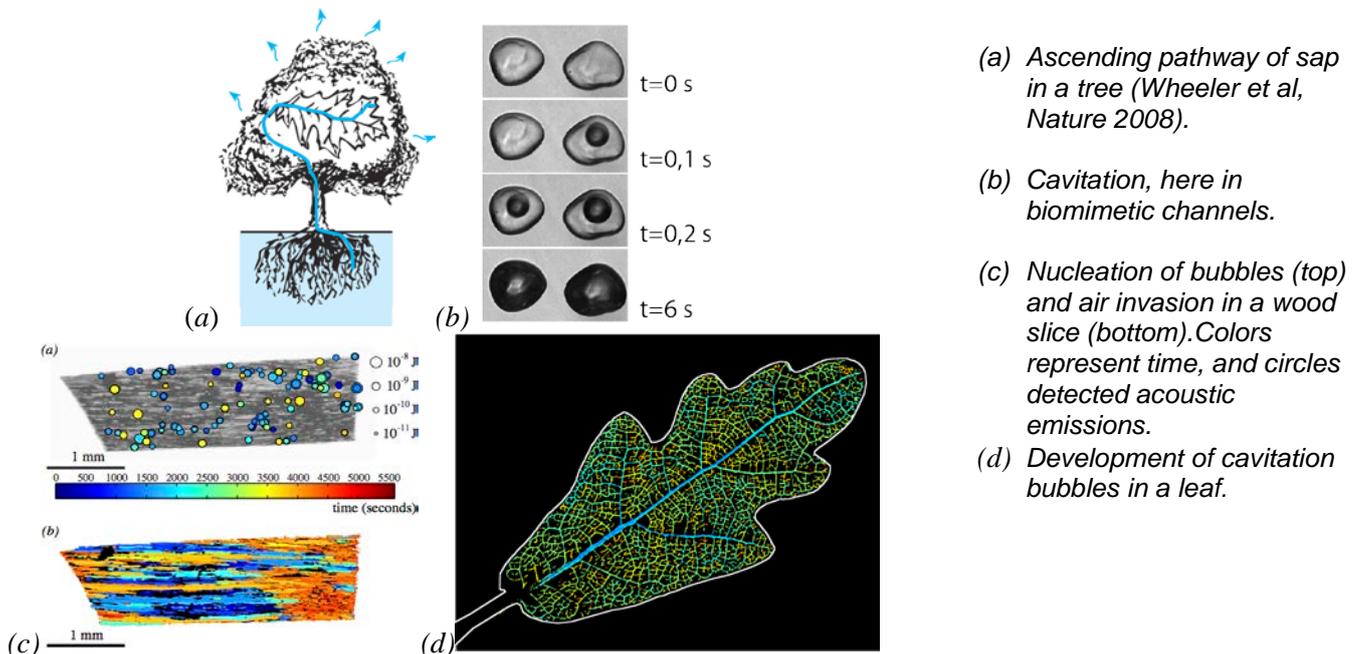
Résumé :

Plants have the ability to decrease their internal liquid pressure. Reduced liquid pressures lead to two extreme and rapid mechanical phenomena: violent bubble nucleation in tree sap or the possibility of very fast movement in carnivorous plants or propulsion of spores in ferns. To bring the sap water to the top of trees, leaves generate very reduced pressures. The pressure becomes negative, down to -200 bars! Water is in a metastable state and can cavitate with the sudden appearance of bubbles, causing an embolism in the sap flow. These cavitation bubbles can cause ultrasonic sounds that are detected in trees during episodes of dry conditions.

Objectives: In this mainly experimental project, the student will learn how to manufacture microfluidic devices (based on porous hydrogel) imitating the sap flow and devices that directly incorporate channels collected from trees. The samples obtained will then be studied with a system developed in the laboratory to control precisely the physical parameters of the water within the channels (negative pressure, temperature) and observe the evolution of the system optically (microscope, fast camera, ultrasonic acoustic microphones). Several aspects will be addressed

1) Fast dynamics of cavitation bubbles, and comparison with results from acoustic emissions measured during cavitation.

2) Propagation of cavitation bubbles, in 2D (leaves) and 3D (wood, experiments with X-ray tomography)



Environment: Laboratoire Interdisciplinaire de Physique is located on the Grenoble campus, and develops research at the interface with Biology and Environment.

Collaborations: We will collaborate with physicists (NTU, Singapore) and biologists (INRA, Clermont-Ferrand).

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Génétique Quantitative et Evolution - Le Moulon

Adresse : Gif-sur-Yvette, 91190

Directeur du laboratoire : Olivier MARTIN

Équipe de recherche (si pertinent) : Recombinaison des Allèles en Méiose : Déterminisme, Applications, Modélisation

Responsable de l'équipe : Olivier MARTIN

Responsables de stage : Matthieu FALQUE et Olivier MARTIN

Adresse électronique : falque@moulon.inra.fr et olivier.martin@moulon.inra.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED 577 Structure et Dynamique des Systèmes Vivant

Profil recherché : Expérimentateur motivé par la méiose, le phénotypage haut débit et l'analyse associée

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : LabEx, Département INRA, co-financement Consortium privé

Titre du stage : **Étude de la recombinaison et de l'interférence entre crossovers chez la levure *S. cerevisiae***

Résumé : La méiose est au cœur de la dynamique d'évolution et d'adaptation de tous les organismes sexués *via* le double brassage génétique qu'elle exerce, avec (1) la ségrégation aléatoire des chromosomes en anaphase I et (2) la recombinaison intra-chromosomique produite par les crossing-overs en prophase I. Ce brassage est également essentiel aux programmes d'amélioration génétique, de sorte que la compréhension du déterminisme génétique du nombre et de la localisation des crossovers est un enjeu crucial autant pour la sélection artificielle que pour comprendre l'évolution et l'adaptation des espèces sauvages (McDonald *et al.*, 2016). En utilisant la levure *S. cerevisiae* comme modèle, notre équipe a développé une méthode de mesure de la recombinaison à haut-débit basée sur l'analyse en cytométrie de flux de méiospores issues d'un croisement avec une souche testeur dans laquelle nous avons intégré des marqueurs codant pour des protéines fluorescentes. Cette méthode permet également de mesurer l'interférence, un phénomène qui empêche les événements proches les uns des autres et joue probablement un rôle important dans la régulation du nombre et de la position des crossovers. Nous utiliserons ces approches pour étudier des mutants des principales voies de contrôle de la recombinaison afin de mieux comprendre les mécanismes en cause.

Approches méthodologiques : Le stage mettra en jeu des techniques de microbiologie et de génétique de la levure pour réaliser les croisements et isoler les méiospores, ainsi que l'utilisation du cytomètre de flux de la plateforme « IMAGIF » et l'analyse des données. Dans un premier temps, nous rechercherons des mutations à effet dominant ou codominant pour lesquelles il *suffit* de croiser la souche mutante avec nos testeurs fluorescents. Pour l'étude des mutants récessifs, il faudra préalablement transférer les marqueurs fluorescents des testeurs dans les souches mutantes par croisement et sélection au cytomètre et par PCR. L'analyse des données brutes de cytométrie se fera avec le logiciel SUMMIT, et l'analyse statistique des résultats avec R.

Contenu du stage : Le projet se focalisera sur des gènes méiotiques susceptibles de moduler le nombre et/ou la répartition des crossovers, par exemple *via* la formation des cassures double-brin de l'ADN (Cooper *et al.*, 2016). Nous phénotyperons avec notre technique haut débit (cf. page suivante) des souches délétées pour ces gènes afin de mesurer la recombinaison et l'interférence chez ces mutants. Pour cela, les souches seront croisées avec des testeurs fluorescents et les méiospores analysées en cytométrie de flux. Nous exploiterons enfin ces résultats dans l'optique d'identifier des mécanismes impliqués dans la régulation des événements de recombinaison.

Références pertinentes pour le contexte du stage.

- McDonald et al. 2016. Sex speeds adaptation by altering the dynamics of molecular evolution. *Nature* 531:233
- Cooper et al. 2016. Meiotic DSB patterning: A multifaceted process. *Cell Cycle* 15 :13

Notre technique développée en interne pour détecter à haut débit la présence de crossovers :

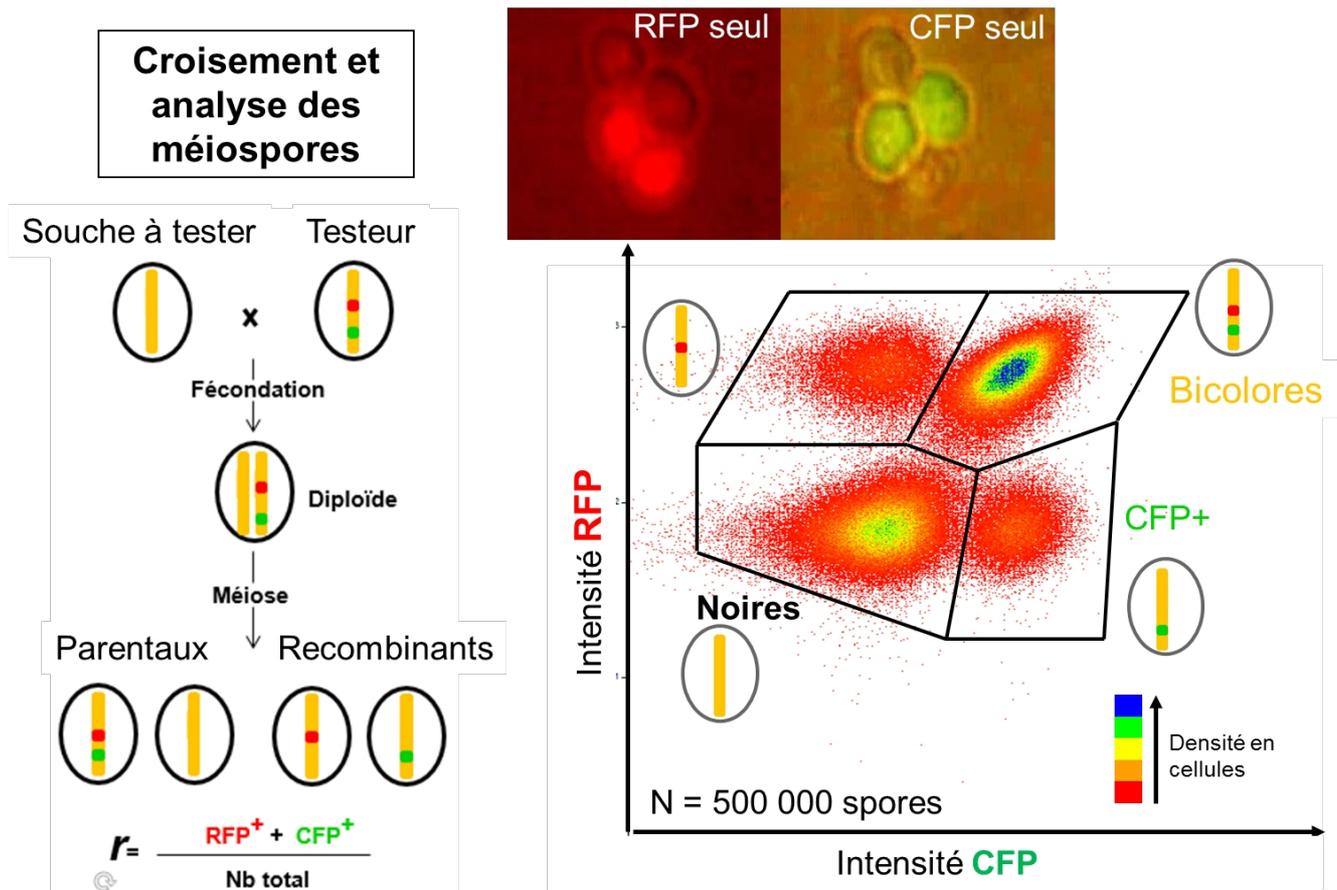


Figure : Méthodologie mise au point par notre laboratoire pour le phénotypage à haut-débit du taux de recombinaison méiotique chez *S. cerevisiae* par cytométrie de flux. Il est ainsi possible de détecter des crossovers dans chacun de millions de spores.

« PROPOSITION DE STAGE ET DE THESE »

Laboratoire : Physico-Chimie Curie – Institut Curie

Adresse : 11, rue Pierre et Marie Curie 75005 Paris

Directeur du laboratoire : Maxime DAHAN

Équipe de recherche (si pertinent) : Active mechanosensitivity by hair cells from the inner ear

Responsable de l'équipe : Pascal MARTIN

Responsable de stage : Pascal MARTIN

Adresse électronique : pascal.martin@curie.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED564 – Physique en Ile-de-France ; ED474 – Ecole Interdisciplinaire « Frontières du Vivant »

Profil recherché : Physicien expérimentateur ou Biologiste intéressé par l'interface physique/biologie

Possibilité de poursuite en thèse : OUI - ~~NON~~

Si oui financement envisagé : Bourse de l'école doctorale

Titre du stage : Magnetic stimulation of single mechanosensory hair-cell bundles from the rat cochlea.

Résumé : Auditory processing of complex sounds like speech or music relies on acute frequency discrimination over a broad range of sound frequencies. To cope with this requirement, the cochlea of the inner ear is endowed with specialized mechanosensory 'hair' cells that are each tuned to detect a particular frequency of sound-evoked vibration according to a frequency map in the auditory organ. In our group, we study how the passive and active mechanical properties of the hair bundle –a group of a few tens elongated microvilli that works as the mechanosensory antenna of the hair cell– conditions auditory detection at specific frequencies (Bormuth et al., 2014). The hair-cell bundle is thought to operate as an active tuning fork for which size helps select the preferred frequency of vibration (Fig. 1). We propose in this project to develop magnetic tweezers to deflect the hair-cell bundle. Magnetic nanoparticles provided by our collaborators (group of Prof Jinwoo Cheon, Yonsei University, South Korea) will be coupled to the membrane of the cell using lectins (Kim et al., 2016). A gradient of magnetic field will be applied locally with a custom-made electromagnet to exert force on the particles and thus on the hair bundle. This novel technique is expected to provide dynamic forces at high frequencies that are compatible with auditory sensitivity (>1kHz). We will use other (slow) force sensors (fluid jet and flexible microfibers) that are readily available in the lab to calibrate the forces exerted on a hair-cell bundle. With our magnetic tweezers, we will measure hair-bundle stiffness as well as active adaptation in response to force steps along the frequency map of the rat cochlea to characterize the associated mechanical gradients.

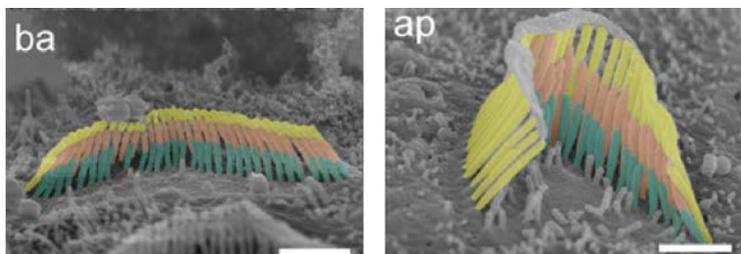


Fig. 1: Hair-cell bundles from the basal (ba) high-frequency and apical (ap) low-frequency regions of the mouse cochlea. In each bundle, the tall, medium, and short rows of stereocilia are artificially colored in yellow, red, and green, respectively. Scale bars: 1 μ m. Adapted from Xiong et al (2012) Cell:151:1283.

References:

- Bormuth V, Barral J, Joanny J-F, Juelicher F, Martin P (2014) Transduction channels' gating can control friction on vibrating hair-cell bundles in the ear. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 111:7185-7190.
- Kim JW, Lee JH, Ma JH, Chung E, Choi H, Bok J, Cheon J (2016) Magnetic Force Nanoprobe for Direct Observation of Audio Frequency Tonotopy of Hair Cells. Nano letters 16:3885-3891.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire de Biologie et Pharmacologie Appliquée (LBPA) UMR 8113 CNRS

Adresse : Ecole Normale Supérieure de Cachan, 61 Avenue du Président Wilson 94235 Cachan

Directeur du laboratoire : Malcolm BUCKLE

Équipe de recherche (si pertinent) : " Structures et Interactions des Acides Nucléiques "

Responsable de l'équipe : Olivier MAUFFRET

Responsable de stage : Olivier MAUFFRET

Adresse électronique : olivier.mauffret@lbpa.ens-cachan.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED 577, "Structure et Dynamique des systèmes vivants" (SDSV)

Profil recherché : Biophysicien

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Ministère de la Recherche

Titre du stage : "Etude des équilibres conformationnels se produisant dans les doubles hélices d'ADN double-brin"

Résumé : Les processus de reconnaissance ADN-protéine sont largement médiés par les propriétés structurales et dynamiques de la double hélice d'ADN elle-même, notamment dans les processus de "lecture indirecte" (indirect readout) où la séquence de l'ADN est reconnue par l'intermédiaire de ses propriétés conformationnelles intrinsèques. Néanmoins, en dépit de leur intérêt évident pour mieux comprendre les reconnaissances ADN-protéine, les équilibres conformationnels, de la double hélice d'ADN, notamment ceux se produisant sur de lentes échelles de temps (micro-miliseconde), ont été très peu étudiés par les méthodes biophysiques. Nous avons justement identifié des séquences d'ADN où des processus d'échange conformationnels, fortement séquence dépendants se produisent. Il nous paraît important de caractériser très complètement ces processus dans les séquences d'importance biologique bien caractérisée (séquences de positionnement fort du nucléosome). Les méthodes récemment introduites de dispersion de la relaxation RMN (résonance magnétique nucléaire), permettent de caractériser les équilibres conformationnels en déterminant les paramètres thermodynamiques, cinétiques et structuraux impliqués. La détermination des paramètres structuraux est essentielle car elle permet de préciser les caractéristiques des conformations impliquées dans le processus d'échange. Nous avons ainsi identifié dans les séquences d'intérêt des équilibres, concernant plusieurs paires de bases consécutives, entre des appariements de type classique (Watson-Crick) et des appariements de type Hoogsteen. Notre objectif dans la suite du travail est de s'interroger sur le caractère concerté (ou non) de ces équilibres se produisant en des sites différents. Pour caractériser ces états, nous utilisons les séquences de pulse de type "spin-lock" qui permet de verrouiller l'évolution des spins durant le délai de relaxation, et de caractériser les états "excités" dans des acides nucléiques doublement marqués ^{15}N , ^{13}C . Nos expériences sont effectuées sur des dodécamères. La méthodologie utilisée permet la caractérisation des états majoritaires et minoritaires en utilisant les données à un seul champ.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Cell Adhesion & Mechanics lab
Institut JACQUES MONOD, UMR 7592 CNRS/Université Paris Diderot

Adresse : Building Buffon - 15 rue Hélène Brion - 75205 Paris CEDEX 13
<http://www.ijm.fr/recherche/equipes/adhesion-cellulaire-et-mecanique/>

Directeur du laboratoire : Giuseppe Baldacci

Équipe de recherche (si pertinent) : Cell Adhesion & Mechanics lab

Responsable de l'équipe : Benoit Ladoux/René Marc Mège

Responsable de stage : René Marc Mège

Adresse électronique : rene-marc.mege@ijm.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : 562

Profil recherché :

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : Bourse Ministérielle

Titre du stage : Reconstruction of a cell adhesion associated molecular mechanosensor

Résumé : Tissue and cell mechanics is emerging as a key player in morphogenesis and tissue repair controlling cell shape and migration which underlies the establishment of the body plan. Mechanical forces are sensed and transmitted by intercellular junctions. The major intercellular mechanotransducing junctions are adherens junctions composed of cadherin adhesion molecules anchored to the actomyosin cytoskeleton through catenins.

These junctional complexes not only transmit forces but also adapt to the pulling force to which they are subjected [1]. This underpins the existence of a molecular mechanosensor difficult to dissect at the cellular level. α -catenin, and its partner vinculin, is the central mechanosensing molecule of this process. We have at the single molecule level how the force regulates the reversible unfolding of α -catenin and its binding to vinculin head [2].

We now want to rebuild in vitro, the minimal mechanosensing molecular machinery of adherens junctions using purified recombinant proteins, actin filaments and myosin II motors. In order to decipher the molecular and biophysical properties of this mechanosensor, proteins of the adhesion complex and the contractile acto-myosin network will be auto-assembled on force microsensors devices developed in the laboratory [3]. We will use live imaging approaches, single molecule imaging and traction force microscopy to determine the dynamic assembly, association and dissociation constants, and forces developed locally.

Références:

- 1. Ladoux, B., Anon, E., Lambert, M., Rabodzey, A., Hersen, P., Buguin, A., Silberzan, P., and Mege, R.M. (2010). Strength dependence of cadherin-mediated adhesions. *Biophys J* 98, 534-542.**
- 2. Yao, M., Qiu, W., Liu, R., Efremov, A.K., Cong, P., Seddiki, R., Payre, M., Lim, C.T., Ladoux, B., Mege, R.M., et al. (2014). Force-dependent conformational switch of alpha-catenin controls vinculin binding. *Nat Commun* 5, 4525.**
- 3. Gupta, M., Kocgozlu, L., Sarangi, B.R., Margadant, F., Ashraf, M., and Ladoux, B. (2015). Micropillar substrates: a tool for studying cell mechanobiology. *Methods Cell Biol* 125, 289-308.**

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Chimie Physique des Biomolécules

Adresse : Université de Namur, Département de Chimie, 61 rue de Bruxelles, 5000, Namur

Directeur du laboratoire : Catherine Michaux et Eric Perpète

Équipe de recherche (si pertinent) : /

Responsable de l'équipe : Catherine Michaux et Eric Perpète

Responsable de stage : Catherine Michaux et Eric Perpète

Adresse électronique : catherine.michaux@unamur.be

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : /

Profil recherché : connaissance de spectroscopie et de biochimie

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : FRIA (instrument du Fonds National de la Recherche Scientifique; passage d'un concours)

Titre du stage : Compréhension et optimisation d'une méthode de renaturation de protéines et de peptides.

Résumé :

La compréhension des phénomènes de repliement des protéines est un défi majeur en biochimie car la structure tridimensionnelle d'une protéine à l'état natif lui confère souvent une fonction spécifique. De nombreuses protéines produites en laboratoire ou en industrie ne se trouvent pas dans leur état fonctionnel; elles forment en effet des agrégats biologiquement inactifs et sont donc non exploitables comme telles. A ce jour, il n'existe pas d'approche expérimentale universelle et performante favorisant un repliement optimal.

Dans ce cadre, une méthode originale, basée sur l'association du détergent SDS et d'un cosolvant, a été mise au point par notre groupe et semble pouvoir s'appliquer à plusieurs types de protéines.

L'efficacité qualitative et quantitative de la méthode sera évaluée sur des peptides et/ou protéines modèles par diverses méthodes analytiques, physicochimiques et spectroscopiques. Nous pourrions ainsi évaluer l'influence des concentrations respectives en détergent et cosolvant, ainsi que celle de l'environnement physico-chimique.

Ce projet original et innovant ouvre de nombreuses perspectives dans les domaines biotechnologique, médical et industriel.

Techniques utilisées : Spectroscopie UV/vis, Fluorescence, Diffusion dynamique de la lumière, dichroïsme circulaire.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Chimie Physique des Biomolécules

Adresse : Université de Namur, Département de Chimie, 61 rue de Bruxelles, 5000, Namur

Directeur du laboratoire : Catherine Michaux et Eric Perpète

Équipe de recherche (si pertinent) : /

Responsable de l'équipe : Catherine Michaux et Eric Perpète

Responsable de stage : Catherine Michaux et Eric Perpète

Adresse électronique : catherine.michaux@unamur.be

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : /

Profil recherché : connaissance de spectroscopie et de biochimie

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : FRIA (instrument du Fonds National de la Recherche Scientifique; passage d'un concours)

Titre du stage : Production, purification et caractérisation de protéines de transport pour des applications nanotechnologiques.

Résumé :

Ce projet s'inscrit dans une thématique multidisciplinaire s'intéressant à la conception de nouveaux matériaux incorporant des protéines de transport facilitant la diffusion de solutés. Les nanomatériaux composites résultants offrent de nombreuses applications potentielles comme les nano-réacteurs, nanosenseurs ou les systèmes de libération de médicaments.

Afin de considérer la mise en oeuvre de ces protéines vers de nouveaux milieux imitant leur membrane naturelle, elles seront d'abord produites en quantité suffisante et purifiées par chromatographie d'affinité. Puis, leur transférabilité sera évaluée par leur reconstitution au sein de vésicules composées de lipides ou de copolymères. L'activité et la diffusion relative de différents solutés à travers le canal seront déterminées par diverses techniques.

Techniques utilisées : Culture bactérienne *in vitro*, Purification de protéines par chromatographie, Electrophorèse, Spectroscopies, Diffusion dynamique de la lumière.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Chimie Physique des Biomolécules

Adresse : Université de Namur, Département de Chimie, 61 rue de Bruxelles, 5000, Namur

Directeur du laboratoire : Catherine Michaux et Eric Perpète

Équipe de recherche (si pertinent) : /

Responsable de l'équipe : Catherine Michaux et Eric Perpète

Responsable de stage : Catherine Michaux et Eric Perpète

Adresse électronique : eric.perpete@unamur.be

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : /

Profil recherché : connaissance de biochimie et de modélisation moléculaire

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : FRIA (instrument du Fonds National de la Recherche Scientifique; passage d'un concours)

Titre du stage : Modélisation moléculaire de la structure et de la dynamique de protéines membranaires.

Résumé :

Les protéines membranaires sont des systèmes biologiques complexes. Elles sont de première importance en biologie cellulaire et interviennent par exemple comme canaux ioniques, récepteurs de médicaments ou transporteurs de solutés. Au sein du génome humain, elles représentent approximativement 25% des séquences codantes, mettant en évidence leur importance, notamment en tant que cibles potentielles pour le développement de nouveaux médicaments. Néanmoins, il n'existe que très peu d'information structurale sur ces protéines. La proportion de structures tridimensionnelles (3D) connues pour ce type de protéines n'est d'ailleurs que de quelques pourcents, montrant la difficulté de les isoler et de les caractériser.

Dans ce cadre, nous utiliserons d'abord des méthodes prédictives pour construire un modèle 3D de ces protéines. Ensuite, nous ferons appel à la dynamique moléculaire pour mettre en évidence les propriétés clés et la structure des protéines insérées dans leur membrane biologique ou dans des systèmes les mimant, comme des micelles de détergents. Les interactions entre ces différents éléments seront analysées au niveau moléculaire.

Techniques utilisées : Méthodes de prédiction de structure, Dynamique moléculaire.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Institut Jacques Monod

Adresse : 15 rue Hélène Brion , 75013 Paris

Directeur du laboratoire : Giuseppe Baldacci

Équipe de recherche (si pertinent) : Organisation Spatiale de la Cellule (www.minclab.fr)

Responsable de l'équipe : Nicolas MINC

Responsable de stage : Nicolas MINC

Adresse électronique : nicolas.minc@ijm.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED SDSV n°577

Profil recherché : Physicien ou biologiste intéressé par les approches quantitatives

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Financement Disponible sur contrat ERC

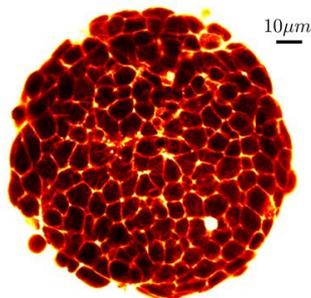
Titre du stage :

Mechanisms controlling cell division patterns in early cleaving embryos.

Résumé : Life for all animals starts with a precise 3D-choreography of reductive divisions of the fertilized egg, known as cleavage patterns. These patterns exhibit conserved geometrical features and striking inter-species invariance within certain animal classes. In the team, we study how eggs control their early embryonic division patterns using a combination of biophysical experiments and modelling (Minc et al., *Cell* 2011; Minc et al. *Trends Cell Biol* 2012; Carvalho et al. *Nat Cell Biol* 2013; Bosveld et al, *Nature* 2016 Tanimoto et al. *J Cell Biol* 2016). These events are regulated by large Microtubule (MT) asters which move and orient nuclei and spindles to specify sites of division. Forces that move asters are generated at nanometer and second scales by MT-associated motors from sites in the cytoplasm or at the cell surface. How MTs and force-generators self-organize to control aster motion and position at millimeter and hour scales is not known. In this project, we will investigate how MT aster centering and decentering mechanisms may compete to control symmetric vs asymmetric divisions during early embryogenesis. This approach will consist of implementing original biophysics approaches (such as magnetic tweezers, and microfluidics) to modulate the spatial distributions of forces applied on microtubules in living eggs. The results will be combined with 3D models predicting division position. This framework promise to unravel how self-organization and determinism may be titrated to pattern early development.

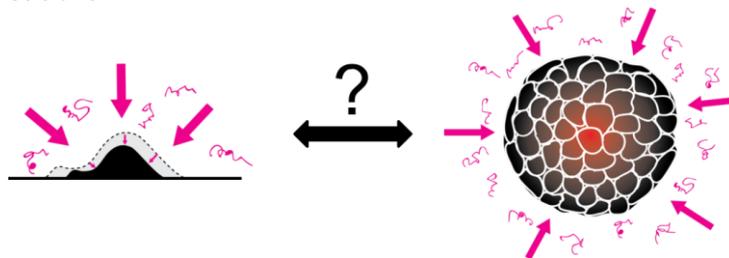
M2 internship: Cell volume control in biological tissues

Within an organism or in laboratory culture conditions, mammalian cells need to actively regulate their size. This control is required to maintain tissue homeostasis, regular development or cope with osmotic or mechanical stress applied by the environment. For example in cancer, tumor unbounded growth exerts pressure on the surrounding tissues and reciprocally within the tumor itself. How this stress affects the tumor and its microenvironment is still unclear, and the molecular mechanisms involved at the tissue level need to be unraveled.



Our lab is working on model tissues advantageously mimicking cancerous tumors in controlled laboratory conditions. We have shown recently that an aggregate made of cancerous cells compress in an abnormal manner when submitted to an osmo-mechanical stress. Indeed, this compression is several times larger for cells in the center of the aggregate compare to single cells cultured in regular 2D conditions.

The aim of this internship is to follow the volume of cells within the aggregate submitted to mechanic or osmotic stress using florescence microscopy and microfluidic devices. New probes developed in the lab will also give access to the stress within the aggregate. Drugs will be used to unravel the molecular mechanisms involved in the response to such constraint and a modelling approach can also be developed in collaboration with a team of theoreticians.



Key words: cell mechanics, tissue mechanics, volume, pressure, microfluidics, microscopy, image analysis.

Contacts: Sylvain Monnier (sylvain.monnier@univ-lyon1.fr) and Hélène Delanoe-Ayari (helene.delanoe-ayari@univ-lyon1.fr)

Lab website: <http://tinyurl.com/BiophysUCBL>



Institut lumière matière
UMR5306 CNRS
Université Claude Bernard Lyon 1
Domaine Scientifique de La Doua
Bâtiment Kastler, 10 rue Ada Byron
69622 Villeurbanne CEDEX, FRANCE

<http://ilm.univ-lyon1.fr>

T +33 (0)4 72 43 29 93

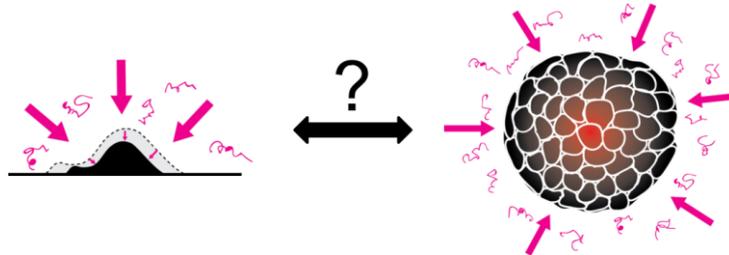
FAX +33 (0)4 72 43 11 30

E-mail contact.ilm@univ-lyon1.fr

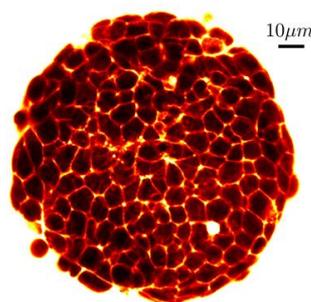
Stage M2 / Thèse : Régulation du volume cellulaire dans les tissus biologiques

Au sein d'un organisme comme en conditions de culture en laboratoire, les cellules de mammifères doivent réguler leur taille en fonction de leur propre contenu et des contraintes exercées par leur environnement. Lors de sa croissance débridée, une tumeur cancéreuse exerce des forces sur les tissus l'environnant, qui comprime la tumeur en retour. Étonnamment, les mécanismes gouvernant la réponse d'un tissu à des contraintes physiques restent peu connus, en particulier ceux régulant la taille des cellules d'un tissu.

Notre équipe travaille sur des tissus modèles qui permettent de mimer des tumeurs cancéreuses. Nous avons pu observer que lorsqu'un tel agrégat cellulaire est soumis à une contrainte mécano-osmotique, ses cellules se compressent nettement plus que lorsqu'une cellule isolée est soumise à la même contrainte.



Le stage proposé se situe dans la continuité de ces travaux et a pour but de mesurer le volume des cellules au sein d'agrégats cellulaires soumis à différents types de contraintes (mécanique ou osmotique) et de caractériser les contraintes au sein même du tissu.



Pour mener à bien ce projet, l'étudiant sera amené réaliser des observations en microscopie optique (fluorescence, bi-photons), utiliser et développer des outils d'analyse d'image et des systèmes microfluidiques. Il sera aussi formé aux techniques classiques de culture cellulaire. Une approche de modélisation pourra aussi être développée en collaboration avec des équipes partenaires.

Mots clés : Mécanique cellulaire et tissulaire, volume, pression, microfluidique, microscopie à fluorescence, analyse d'images.

Ce stage peut donner suite à une thèse.

Contacts : Sylvain Monnier (sylvain.monnier@univ-lyon1.fr) et Hélène Delanoe-Ayari (helene.delanoe-ayari@univ-lyon1.fr)

Site web de l'équipe : <http://tinyurl.com/BiophysUCBL>



Institut lumière matière
UMR5306 CNRS
Université Claude Bernard Lyon 1
Domaine Scientifique de La Doua
Bâtiment Kastler, 10 rue Ada Byron
69622 Villeurbanne CEDEX, FRANCE

<http://ilm.univ-lyon1.fr>

T +33 (0)4 72 43 29 93

FAX +33 (0)4 72 43 11 30

E-mail contact.ilm@univ-lyon1.fr

Internship / PhD project :

Active transport of biomolecules through biological and artificial nanopores

Supervisor: Fabien Montel (fabien.montel@ens-lyon.fr)

Co-supervisor : Sergio Ciliberto (ENS Lyon) **Collaborations:** Cécile Cottin-Bizonne (ILM, Lyon), May Penrad-Mobayed (IJM, Paris), Orestis Faklaris (IJM, Paris)

Institute/Department : Ecole Normale Supérieure de Lyon / Laboratoire de Physique (UMR 5672)

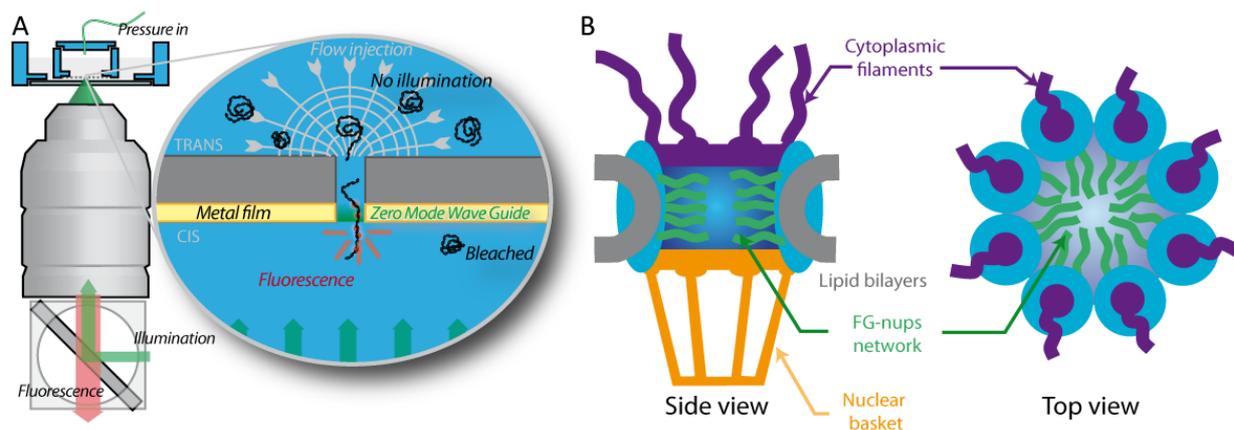
Ecole Doctorale : Ed 52 - PHAST Lyon

Summary: Flows of molecules at the nanometer scale play an important role in many biological, chemical and physical systems and have important applications. Nanoscale channels offer the possibility to explore new phenomena appearing for confined molecules or flows. New transport behavior and functionalities can be developed by taking benefit of the specific couplings occurring at these scales.

For example, the idea to select random fluctuations in order to force a particle in one direction has led to the paradox of the Brownian ratchet as introduced by Feynman. Translocation mechanisms that can be described as Brownian ratchets have been observed in various biological processes where proteins are translocated through a biological membrane. In this case a protein moves in and out through a nanopore by thermal fluctuations. On the in-side of the pore, smaller ratcheting particles may bind to the proteins and bound sites along the polymer are forbidden to move back through the pore.

In this project, we propose to use single molecule methods to create and control the active transport of biomolecules in biological and artificial nano-systems. In a first part we will use a gradient of biomolecules with high affinity for the cargos molecules to bias the diffusive motion of the molecules. We will benefit from the single molecule experiments developed in the lab (zero-mode waveguide for nanopores and optical tweezers, Fig 1a) to measure directly at the single molecule and single channel scale the force-velocity relation of this selective nano-pump.

In a second part we will study a biological nanopore, the nuclear pore complex (Fig 1b). This pore is only gateway between nucleus and the cytoplasm of the cells. It is very selective and uses a transporter protein gradient to actively sort and translocate biomolecules in or out of the nucleus. Using protocols developed in the lab to extract and manipulate this pore we will apply the setup used in the first part to characterize and model this biological nanopump.



A) Zero-Mode Waveguide for nanopores. Using a near field effect single molecule translocations can be observed in real time.

B) The nuclear pore complex structure. The central channel is crowded with unstructured proteins, the FG nups.

Bibliography : Zero-mode waveguide detection of flow-driven DNA translocation through nanopores. Auger T, Mathé J, Viasnoff V, Charron G, Di Meglio JM, Auvray L, Montel F. *Phys Rev Lett.* 2014 Jul 11;113(2):028302.

PROPOSITION DE STAGE M2

Laboratoire : LP2N (Laboratoire de Photonique, Numérique et Nanosciences)

Adresse : rue François Mitterrand, 33400 Talence

Directeur du laboratoire : P. Bouyer

Équipe de recherche (si pertinent) : Bioimaging and Optofluidics

Responsable de l'équipe : Pierre Nassoy

Responsable de stage : Pierre Nassoy

Adresse électronique : pierre.nassoy@institutoptique.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED 209 SPI (Sciences Physiques et de l'Ingénieur) de l'université de Bordeaux

Profil recherché : Biophysicien

Possibilité de poursuite en thèse : Peut-être

Si oui financement envisagé : en fonction de demandes de financement en cours

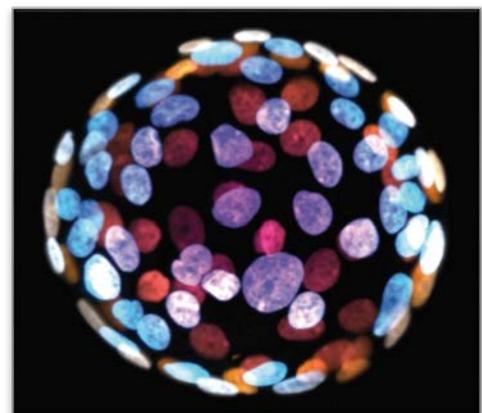
Titre du stage : Mechanotransduction of adipose stem cells in 3D by optofluidics

Résumé :

We have recently developed a microfluidic platform to produce multicellular spheroids in a controlled and high throughput manner.. The technology, which is named Cellular Capsules Technology, is inspired from a culinary creation, the Flavor Pearls. It is based on the use of a co-extrusion microfluidic device and allows us to encapsulate cells and subsequently culture spheroids. We wish to exploit these technological advances to engineer tissues and perform fundamental biophysical investigations in growing tissues.

More specifically, the project will aim at deciphering the mechanism of adipocyte differentiation in 3D at a multiscale level. Preliminary experiments show that differentiation of adipocyte precursor cells can be solely driven by mechanical cues. We will investigate the dynamics of "nucleation" and "propagation" of mechanically-driven differentiation. At a molecular scale, our working hypothesis is that mechanosensitive ion channel are crucially involved in the regulation of adipose tissues growth. This work will be performed in collaboration with the team of Dr. Eric Honoré in Nice.

The Master student will have to develop optical systems integrated into microfluidic devices to achieve *in-situ* preparation, culture, treatment, imaging, analysis and sorting of cellular capsules and tubes. We are convinced that such an approach, which originates from the emerging and multidisciplinary field of "optofluidics" will be useful both to decipher fundamental biological mechanisms and to tackle biomedical issues related to soft tissue engineering and relevant in obesity progression.



« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Institut de Biologie Intégrative de la Cellule (I2BC)
Département de Biochimie, Biophysique et Biologie Structurale

Adresse : CEA Saclay,
IBITEC-S/SB2SM/LBSR
Batiment 144
91191 Gif sur Yvette cedex

Directeur du laboratoire : Thierry Meinel

Équipe de recherche (si pertinent) : Deux équipes ;

- Assemblage moléculaire et intégrité du génome: <http://www.cgm.cnrs-gif.fr/spip.php?article1019>
- NanoBioPhotonique <http://www.cgm.cnrs-gif.fr/spip.php?article1291>

Responsable de l'équipe :

Francoise OCHSENBEIN / Niko HILDEBRANDT

Responsable de stage :Francoise Ochsenbein

Adresse électronique :Francoise.ochsenbein@cea.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement :ED 425 innovation thérapeutique

Profil recherché : Biophysicien, biologie structurale

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : ANR accepté en 2016 (PhenX)

Titre du stage : Base moléculaire de l'activation de la recombinaison Xer par les phages
Molecular mechanism of Phage-encoded activation of Xer recombination

Résumé : Une différence majeure entre les bactéries et les eucaryotes est intrinsèque à la structure de leurs chromosomes: ils sont linéaires dans les eucaryotes et circulaires dans les bactéries. La circularité de l'ADN conduit à la formation de dimères de chromosomes qui entravent la répartition de l'information génétique entre les cellules filles. Les bactéries possèdent une machinerie de recombinaison dédiée à la résolution des dimères de chromosomes, la machinerie Xer, par l'addition d'un crossover au niveau d'un site unique de leurs chromosomes circulaires, dif. Ce site peut être utilisé par des virus pour s'intégrer au génome des bactéries. Ce phénomène est souvent associé à l'évolution vers la pathogénicité de ces bactéries. Un exemple frappant est donné par l'agent du choléra, Vibrio cholerae qui est retrouvé dans les eaux saumâtres du monde entier. La plupart des souches ne sont pas pathogènes et la diarrhée responsable du taux élevé de mortalité et de la propagation épidémique du choléra est due à une toxine insérée au site Dif par l'intervention d'un phage qui détourne la machinerie Xer. Ce phage échappe à la surveillance de la bactérie car il est capable d'activer la machinerie Xer grâce à un facteur d'intégration XafT, récemment identifié par l'équipe de FX. Barre (CNRS I2BC) (résultats non publiés). XafT est une petite protéine cytoplasmique qui contient un domaine de fonction inconnue retrouvée également dans d'autres phages.

Le but du projet de recherche est de caractériser à l'échelle atomique comment fonctionne la machinerie Xer et l'action de XafT sur cette machinerie. Ces connaissances permettront de concevoir des inhibiteurs de ces voies qui pourront stopper l'intégration des phages toxiques dans les souches de Vibrio cholerae. Au cours du stage de M2, des approches de cristallographie couplées à des études mécanistiques par des mesures de distance en FRET (Fluorescence Energy Transfert) seront entreprises dans deux équipes d'un même institut, l'I2BC. La caractérisation structurale de XafT sera réalisée avec dans l'équipe de F. Ochsenbein. L'influence de XafT sur la recombinaison par la machinerie Xer avec l'aide de l'équipe de N. Hildebrandt. Le projet débouchera sur un projet de thèse visant à continuer cette caractérisation et au design d'inhibiteurs de la voie Xer/XafT.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire de cristallographie et RMN biologiques, UMR 8015 CNRS

Adresse : 4 av de l'Observatoire, 75006 Paris

Directeur du laboratoire : Nicolas Leulliot

Équipe de recherche (si pertinent) :

Responsable de l'équipe :

Responsable de stage : Samuela Pasquali

Adresse électronique : samuela.pasquali@parisdescartes.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : Médicament, Toxicologie, Chmie, Imageries (MTCI)

Profil recherché : Connaissance des notions de base de la biologie moléculaire et en modélisation et simulation de systèmes biologiques, bonnes capacités de programmation.

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : bourse ministerielle

Titre du stage : Nucleic acids coarse-grained modeling

Résumé :

The study of non-coding RNA has been a very active area of research in recent years, as new functions of RNAs were reported. In order to perform their correct biological activities, RNA molecules must adopt one or more specific three-dimensional structures, and the equilibrium between the various possible configurations is regulated mainly by thermal fluctuations, pH, ionic conditions, and the presence of ligands. Despite advances in experimental methods, many questions remain open concerning the structure, the dynamics and thermodynamics of these molecules. As a first step, understanding how non-coding RNA works implies being able to determine its tertiary structure and understanding how the molecule adapts to the changes of the environment. Computer studies can complement the experimental information, but they are limited by the size of the systems and by the time-scales characteristic of the processes. In recent years, new coarse-grained models allow to simulate these molecules.

Among them we have developed HiRE-RNA/DNA to study RNA folding and DNA assembly. With this model we have been able predict folding of RNA molecules of complex architectures up to sizes of 50 nucleotides from sequence only, and of structures of larger systems when coupled to limited or low-resolution experimental data. The unique feature of the model is to account for a large set of non-canonical and multiple base pairs (triplets and quadruplets), allowing to study systems as complex as G-quadruplexes.

According to the applicant's interests and background the internship can focus on one of the three following axes:

1. Introducing explicit ions in the coarse-grained model HiRE-RNA

RNA molecules are highly charged and the presence of ions is a crucial element in the folding process and to stabilize the overall architecture. Our RNA coarse-grained model implicitly takes into account the presence of ions at large distances through a screened electrostatic potential, but does not account explicitly for structural ions. To move toward a more realistic description of RNA molecules, we need to develop an RNA model including a finer description of electrostatic interactions.

The aim of this internship is to set the ground for introducing explicit ions in our coarse-grained model to go toward a model that can describe DNA condensation, structural ions of RNA folds, and eventually the response of the system to changes in pH. The work will be composed of two phases: definition and parameterization of a force field for ions only (in the framework of HiRE-RNA) reproducing well known properties of ionic solutions, benchmarking of folding of small RNA molecules and DNA double helical assembly with explicit ions. This work will be done also in collaboration with Pr. Fernando Barroso da Silva at University of Sao Paulo, providing expertise on simulations of ionic systems and of proteins and RNA responses to pH variations.

2. Integrating HiRE-RNA with the coarse-grained protein model OPEP.

The coarse-grained OPEP force field for protein is the “twin” model of HiRE-RNA. It has proven very successful in predicting correct structures for amyloid and non-amyloid. Both force fields are coupled to molecular dynamics, simulated tempering, and Monte Carlo simulations. Up to now the two models have been developed independently from one another, allowing to perform simulations either on proteins alone, or on nucleic acids alone, but not of the two systems together.

For RNA, we have also recently developed UnityMol+HiRE-RNA, a program based on a game engine, to interactively fold RNA molecules (<http://www.baaden.ibpc.fr/umol/> ; <https://hirerna.galaxy.ibpc.fr/>).

In this internship we propose to take the first steps in the direction of a unified force-field for proteins/nucleic acids complexes developing a simple interface accounting for occupied volume, electrostatics and Van der Waals interactions. This first implementation will be imported into UnityMol+HiRE-RNA to allow for interactive simulations including both nucleic acids and proteins. This work will be done in collaboration with Pr. Philippe Derreumaux, principal developer of OPEP, and Dr. Marc Baaden, principal developer of UnityMol, both at Laboratoire de Biochimie Théorique in Paris.

3. Application of HiRE-RNA to the study of triple helices

Nucleic bases can form pairs other than the canonical G-C and A-T or A-U pairs. Following the description introduced by E. Westhof, bases can form pairs on each of their three sides: Watson-Crick, Hoogsteen and Sugar. These non-canonical and multiple pairings are crucial in the formation of single stranded RNA structures and of multiple strand structures for DNA or DNA/RNA mixed systems.

Double stranded DNA in the B-form helix can form triple helices with the insertion of an additional DNA or RNA strand in its major groove through Hoogsteen pairs. These structures play important roles in vivo and are inherently prone to mutations and recombination, making the triple helix a possible interesting pharmacological target. HiRE-RNA is at present the only coarse-grained RNA model including a description for triplets and quadruplets, and it is therefore in a unique position to study the properties of nucleic acids triple helices.

In this internship we propose to determine a proper parametrization of the coarse-grained model to study the DNA triple helix and to investigate the dynamical and thermodynamical properties of its formation as well as the role of specific sequences. The work will be done also in collaboration with Pr. Alessandra Villa at Karolinska Institut in Stockholm, studying these same systems in silico at atomistic resolution.

The work will be supervised by Pr. Samuela Pasquali at the Laboratoire de Cristallographie et RMN Biologiques (LCRB), UMR 8015 CNRS, Université Paris Descartes. SP has newly joined the lab and is in the process of starting her own modeling team in close contacts with the experimental teams in the lab.

The project will benefit from the environment at LCRB, where different biophysical techniques are used to study biomolecules and that will provide benchmark systems for modeling, and of the strong collaboration with the Laboratoire de Biochimie Theorique (UMR 9080 CNRS).

If interested, please send your CV including a copy of your undergraduate records to Samuela Pasquali: [samuela.pasquali@parisdescartes.fr](mailto:samuella.pasquali@parisdescartes.fr)

References

- ▣ S. Pasquali, P. Derreumaux, « HiRE-RNA: a high resolution coarse-grained energy model for RNA », *J Phys Chem B.*, 114, 11957-11966 (2010)
- ▣ T. Cragolini, P. Derreumaux, S. Pasquali, « Coarse-grained simulations of RNA and DNA duplexes », *J Phys Chem B*, 117, 8047-8060 (2013)
- ▣ F. Sterpone, S. Melchionna, P. Tuffery, S. Pasquali, N. Mousseau, T. Cragolini, Y. Chebaro, J-F. Saint-Pierre, M. Kalimeri, A. Barducci, Y. Laurin, A. Tek, M. Baaden, P.H. Nguyen, P. Derreumaux, « The OPEP coarse-grained protein model: from single molecules, amyloid formation, role of macromolecular crowding and hydrodynamics to RNA/DNA complexes », *Chem Soc Reviews*, 43, 4871-4893 (2014)
- ▣ T. Cragolini, Derreumaux, S. Pasquali, Ab initio RNA folding, *Journal of Physics: Condensed matter*, 2015, 23, 233102 T. Cragolini, Y. Laurin, P. Derreumaux, S. Pasquali (2015), « Coarse-grained HiRE-RNA model for ab initio RNA folding beyond simple molecules, including noncanonical and multiple base pairings », *JCTC*, 11, 3510-5322
- ▣ F. L. Barroso da Silva, S. Pasquali, P. Derreumaux, L. Gustavo, « Electrostatic analysis of the mutational and pH effects of the N-terminal domain self-association of the Major Ampullate Spidroin », *Soft Matter*, 12, 5600 (2016)
- ▣ A. Azevedo Reis Teixeira, M. Lund, F. Barroso da Silva, « Fast proton titration scheme for multiscale modeling of protein solutions », *J. Chem. Theory Comput.*, 2010, 6 (10), pp 3259–3266
- ▣ F. Sterpone, S. Melchionna, P. Tuffery, S. Pasquali, N. Mousseau, T. Cragolini, Y. Chebaro, J-F. Saint-Pierre, M. Kalimeri, A. Barducci, Y. Laurin, A. Tek, M. Baaden, P.H. Nguyen, P. Derreumaux, « The OPEP coarse-grained protein model: from single molecules, amyloid formation, role of macromolecular crowding and hydrodynamics to RNA/DNA complexes », *Chem Soc Reviews*, 43, 4871-4893 (2014)
- ▣ S. Doutréigne, C. Gageat, T. Cragolini, A. Taly, S. Pasquali, P. Derreumaux, M. Baaden, « UnityMol : interactive and ludic visual manipulation of coarse-grained RNA and other biomolecules », *Virtual and Augmented Reality for Molecular Science (VARMS@IEEEVR)*, 2015

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : I2BC, UMR 9198

Adresse :

Bâtiment 532, CEA-Saclay
91191 Gif-sur-Yvette

Directeur du laboratoire : Thierry Meinel

Équipe de recherche (si pertinent) :

Equipe « interactions et mécanismes d'assemblage de protéines et de peptides » (IMAPP)

Responsable de l'équipe : Stéphane Bressanelli

Responsable de stage : Maïté Paternostre

Adresse électronique : maite.paternostre@cea.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement :

ED 569

Innovation thérapeutique : du fondamental à l'appliqué

Profil recherché : Physicochimiste-biophysiciens avec des bases solides en spectroscopies (électroniques et vibrationnelle) et diffusion de rayonnement (lumière et RX)

Possibilité de poursuite en thèse : **OUI - NON**

Si oui, financement envisagé : contrat CIFRE

Titre du stage :

Caractériser les modes d'interaction d'un peptide dicationique avec les membranes et évaluer ses capacités à les traverser

Résumé :

Les auto-assemblages naturels comme les filaments d'actine, les microtubules, les capsides virales, les membranes biologiques, sont tous maintenus par des interactions non-covalentes. La compréhension et la maîtrise des paramètres chimiques et physicochimiques à l'origine de ces architectures restent toujours un enjeu essentiel en biologie. A cette fin, l'utilisation de systèmes modèles permet souvent de caractériser avec précision ces mécanismes d'interaction ainsi que leur régulation physicochimique encore mal connus.

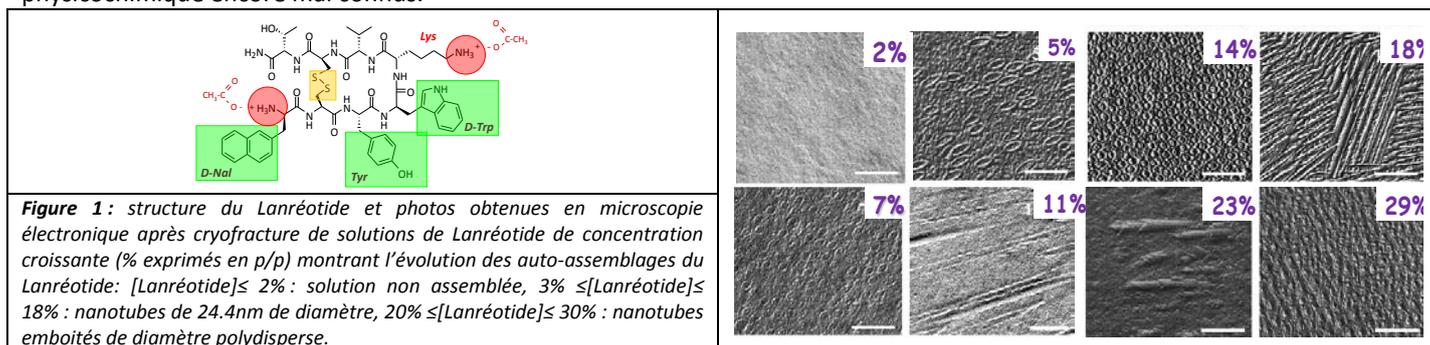


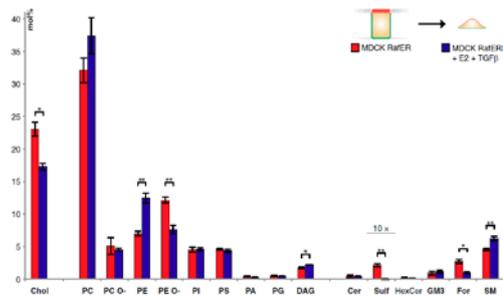
Figure 1 : structure du Lanréotide et photos obtenues en microscopie électronique après cryofracture de solutions de Lanréotide de concentration croissante (% exprimés en p/p) montrant l'évolution des auto-assemblages du Lanréotide: [Lanréotide] ≤ 2% : solution non assemblée, 3% ≤ [Lanréotide] ≤ 18% : nanotubes de 24.4nm de diamètre, 20% ≤ [Lanréotide] ≤ 30% : nanotubes emboîtés de diamètre polydispense.

Le Lanréotide est un octapeptide dicationique, analogue thérapeutique de la somatostatine-14 (**Figure 1**). Il s'auto-assemble en solution et forme différentes architectures supramoléculaires nano-tubulaires en fonction de sa concentration (**Figure 1**). Les structures de ces édifices, ont été résolues du niveau moléculaire au niveau supramoléculaire^{1,2}.

Le sujet de ce stage de master est de déterminer l'interaction et l'éventuel passage du peptide au travers de membranes modèles de composition de plus en plus complexes. L'équipe d'accueil possède une expertise dans le domaine des interactions membrane-molécules exogènes et possède différentes approches pour caractériser ces interactions: diffusion de rayon X³ et

¹ Valéry et al, Biomimetic organization: Octapeptide self-assembly into nanotubes of viral capsid-like dimension, *PNAS*, 100(18), 10258–10262, 2003.

² Valéry et al, Self-association process of a peptide in solution: From beta-sheet filaments to large embedded nanotubes, *Biophys. J.*, 86(4), p2484–2501, 2004



calorimétrie^{3,4} spectroscopie UV-Visible et diffusion dynamique de la lumière^{5,6}, spectroscopie de fluorescence⁷ ou spectroscopie vibrationnelle⁸.

Figure 2 : Composition lipidique de cellules épithéliales différenciées (rouge) et mésenchymateuses (bleu). (d'après "Membrane lipidome of an epithelial cell line, Julio L. Sampaio, et al., PNAS, 2011, 108(5), 1903-1907)

Nous étudierons les interactions du Lanréotide non assemblé mais aussi les interactions des assemblages de Lanréotide avec des membranes lipidiques. Il s'agira d'étudier des membranes lipidiques complexes dont la composition mimera celles de cellules épithéliales (**Figure 2**). Nous testerons entre autre l'influence de l'introduction de glycolipides sur l'interaction Lanréotide-membranes.

Nous étudierons aussi l'action synergique possible de molécules facilitatrices pouvant aider le peptide à traverser des membranes. Les interactions peptide-membranes seront caractérisées par différentes approches:

- turbidimétrie, osmométrie, spectroscopie de fluorescence pour déterminer les conditions d'interaction
- spectroscopie infra rouge, fluorescence et calorimétrie différentielle pour détecter les changements d'organisation des lipides sous l'action du peptide,
- diffusion de rayon X pour déterminer la structure des membranes en interaction avec le peptide et celles des architectures peptidiques en présence de lipides,
- microscopie électronique après cryofracture pour observer les changements morphologiques des architectures supramoléculaires.

Ce stage s'effectuera en binôme avec un doctorant de 3^{ème} année sous contrat CIFRE. A la fin du stage de M2, il y a une très forte probabilité d'obtenir un contrat CIFRE pour effectuer un doctorat sur ce sujet. Ce financement dépendra bien sûr du déroulement du stage de M2 ainsi que des résultats obtenus. Les travaux seront réalisés au sein d'un laboratoire commun CNRS, CEA et Ipsen, un industriel français dans le domaine pharmaceutique. L'étudiant interagira donc avec des chercheurs de disciplines différentes (physiciens, chimistes et biologistes) ainsi qu'avec des industriels. Il lui faudra un solide bagage en physicochimie et biochimie et un attrait pour la recherche expérimentale et la paillasse. Il participera aux réunions de travail entre industriels et chercheurs et exposera régulièrement ses travaux devant les différents acteurs du laboratoire commun.

³ L. Forte et al., Sodium taurocholate-induced lamellar-micellar phase transitions of DPPC - Determined by DSC and X-ray diffraction. *J. Therm. Anal. Calorim.* 51, 773 1998.

⁴ N. Haut et al., Interaction between Artificial Membranes and Enflurane, a General Volatile Anesthetic: DPPC-Enflurane Interaction, *Biophysical Journal* 84, 3123-3137, 2003

⁵ T. Pott, et al., A comparative study of the action of melittin on sphingomyelin and phosphatidylcholine bilayers. *Eur. Biophys. J.* 27, 237 1998.

⁶ S. Bernad et al., Interaction of horse heart and *Thermus thermophilus* type c cytochromes with phospholipid vesicles and hydrophobic surfaces. *Biophys. J.* 86, 3863 2004.

⁷ M. Paternostre et al., Partition coefficient of a surfactant between aggregates and solution: Application to the micelle-vesicle transition of EPC and OG. *Biophys. J.* 69, 2476, 1995.

⁸ S. Oellerich, et al., in Spectroscopy Of Biological Molecules: New Directions. (Springer, Dordrecht, 1999), pp. 377-378

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : LABORATOIRE DE PHYSIQUE STATISTIQUE de L'ENS

Adresse : 24, rue Lhomond, 75231 PARIS CEDEX 05, FRANCE

Directeur du laboratoire : Jorge Kurchan

Équipe de recherche (si pertinent) : Mécanismes Moléculaires Membranaires

Responsable de l'équipe : Frédéric Pincet

Responsable de stage : Eric Perez

Adresse électronique : perez@lps.ens.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED PIF

Profil recherché : Physicien

Possibilité de poursuite en thèse : OUI -NON

Si oui financement envisagé : ED

Titre du stage : Propriétés mécaniques et d'adhésion des cellules superficielles de la peau

Résumé :

Les propriétés des cellules superficielles de la peau déterminent leur rôle protecteur. Dans ce contexte, le stage consistera à mesurer les propriétés élastiques et d'adhésion de telles cellules au moyen de micro-ressorts. On pourra par exemple mesurer la force nécessaire pour détacher deux cellules ou celle qu'il faut pour courber ou étirer une cellule, et ce à différentes profondeurs de la peau. Il sera possible d'en extraire les paramètres tels que l'énergie d'adhésion et le module d'Young. L'anisotropie de cette adhésion et son gradient pourront être déterminés, ainsi que les facteurs environnementaux ayant une influence sur ces caractéristiques. Ainsi, il sera possible de faire une description quantitative et prédictive du comportement de la couche la plus superficielle de la peau pouvant être utile en dermatologie ou en cosmétologie.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Institut Curie, Centre de recherche, Inserm U932 Immunité et cancer

Adresse : 25 rue d'Ulm, 75005 Paris

Directeur du laboratoire : Sebastian Amigorena

Équipe de recherche (si pertinent) : Spatio-Temporal Regulation of Antigen Presentation

Responsable de l'équipe : Ana Maria Lennon-Dumenil (Inserm DR)

Responsable de stage : Paolo Pierobon (CNRS CR)

Adresse électronique : pierobon@curie.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : 564 EDPIF

Profil recherché : Biophysicist, soft matter physicist, biochemist

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : concours école doctorale, FdV

Titre du stage : Statics and dynamics of the B cell synapse in super-resolution

Résumé :

Our group studies the physics the first contact between an immune cells and the antigen (a protein recognized as dangerous), that establishes the onset for adaptive immunity. The comprehension of this aspect of immune cells called immune synapse, has relevant implications in cell-cell signaling, lymphocyte development and immunotherapy. In particular we develop quantitative methods to study the rearrangement of the cytoskeleton following antigen encounter and the forces developed in the internalization of antigen (traction force microscopy).

We are interested in how the synapse dynamically organizes itself to optimize the signaling and hence the response of the cell. The project aims at combining super resolution microscopy (TIRF-SIM, STORM) and single molecule tracking to study the early events of the synapse formation like first adhesive contact, antigen gathering and internalization, on substrate with different physical properties such as bilayers, silicon deformable gels and engineered cells. The candidate will setup the observation conditions, the live cell imaging process on these substrates and the data analysis. The challenge is to achieved super-resolution in conditions never experimented before to be able to construct a physical model of the immune synapse. Within the frame of this project there are possibilities for future instrumental development in an exciting area of biophysics.

Although no advanced experience in microscopy is required, the student must be motivated to learn cutting edge techniques and image analysis. Quantitative reasoning, interdisciplinary mind and capacity of social interaction with colleagues are highly appreciated. Our group has ongoing collaborations with biophysicists and theoreticians and is part of the immunology department of the Curie Institute, where the candidate will benefit of imaging, bioinformatics and animals facilities.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Unité de Bioénergétique et Ingénierie des Protéines – BIP (UMR7281)

Adresse : 31, chemin Joseph Aiguier 13400 Marseille

Directeur du laboratoire : Mme Marie-Thérèse GIUDICI-ORTICONI

Équipe de recherche (si pertinent) : Biophysique des Métalloprotéines

Responsable de l'équipe : Pr Bruno Guigliarelli

Responsable de stage : PILET Eric (UPMC) et GRIMALDI Stéphane (AMU)

Adresse électronique : eric.pilet@gmail.com grimaldi@imm.cnrs.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement :

Profil recherché : Biochimiste, Physico-Chimiste ou Physicien intéressé par travail à l'interface.

Possibilité de poursuite en thèse : OUI - NON

Si oui, financement envisagé :

Titre du stage : Exploration fonctionnelle du site d'oxydation des quinols dans des complexes protéiques par résonance paramagnétique électronique

Résumé :

Nous étudions le fonctionnement de métalloenzymes membranaires impliquées dans des mécanismes de transferts couplés électrons/protons durant les processus bioénergétiques. Dans ce contexte, nous nous intéressons à caractériser l'une des étapes clés, à savoir l'interaction fonctionnelle de ces systèmes avec les quinones présentes dans les membranes biologiques où elles transportent électrons et protons. Ces interactions ont lieu dans des sites protéiques spécifiques au sein dequels les quinones sont oxydées ou réduites, générant transitoirement des intermédiaires radicalaires de type semiquinone.

Les métalloenzymes d'origine bactérienne que nous étudions oxydent les quinols en quinones et interviennent dans des voies métaboliques aérobies et/ou anaérobies. Le travail proposé au stagiaire consistera selon son profil en :

(i) la préparation du matériel biologique (purification de vésicules membranaires ou de protéine par chromatographie),
(ii) la génération de semiquinones par potentiométrie redox suivie par spectroscopie RPEcw,
(iii) la caractérisation des propriétés rédox et acidobasiques des semiquinones,
(iv) la mesure des paramètres cinétiques relatifs à l'activité d'oxydation des quinols,
(v) la définition du mode de stabilisation de la semiquinone dans le site protéique (réseau de liaisons hydrogène, identification des acides aminés environnants). Pour cela, le stagiaire aura recours aux techniques de RPE avancée (HYSCORE, ENDOR) permettant de cartographier les noyaux magnétiques (^1H , ^{14}N) dans l'environnement immédiat de la semiquinone via la mesure des couplages magnétiques entre spins électronique et nucléaires.

Ce travail pourra être mené sur des enzymes naturelles ou modifiées sélectivement, éventuellement enrichies en isotopes (^2H , ^{15}N), et pourra cibler différents types de quinones. Il permettra de mieux comprendre le lien entre les propriétés rédox des quinones stabilisées dans les complexes protéiques, l'activité enzymatique associée et le mode de stabilisation du radical. Il contribuera à mieux appréhender le rôle crucial de l'environnement protéique dans l'ajustement fin de la réactivité des enzymes bioénergétiques envers les quinones.

Mots clés : métalloenzyme, semiquinone, oxydoréduction, spectroscopie RPE, enzymologie, bioénergétique

Références bibliographiques :

Rendon J, Pilet E, Fahs Z, Seduk F, Sylvi L, Hajj Chehade M, Pierrel F, Guigliarelli B, Magalon A, Grimaldi S.

Demethylmenaquinol is a substrate of *Escherichia coli* nitrate reductase A (NarGHI) and forms a stable semiquinone intermediate at the NarGHI quinol oxidation site. (2015) *BBA-Bioenergetics*, 1847, 739-47.

Grimaldi S, Arias-Cartin R, Lanciano P, Lyubenova S, Szenes R, Endeward B, Prisner TF, Guigliarelli B, Magalon A.

Determination of the proton environment of the high stability menasemiquinone intermediate in *Escherichia coli* nitrate reductase A by pulsed EPR. (2012) *J. Biol. Chem.*, 287, 4662-70.

« PROPOSITION DE STAGE »

Laboratoire : Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale, Université de Toulouse, CNRS, UPS, France ; Web site : <http://phagocytes.weebly.com/>

Adresse : 205 route de Narbonne, 31077 Toulouse

Directeur du laboratoire : Jean-Philippe Girard

Équipe de recherche : Team « Phagocyte Migration and Differentiation »

Responsable de l'équipe : Isabelle Maridonneau-Parini

Responsable de stage : Renaud Poincloux

Adresse électronique : renaud.poincloux@ipbs.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :
Ecole Biologie Santé Biotechnologies - ED 151, Toulouse

Profil recherché : Biophysicien

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Bourse ministérielle

Titre du stage : 3D nanoscale architecture and mechanics of macrophage podosomes.

Résumé :

Our group has been pioneer in describing the 3D migration of human and mouse macrophages. We have observed that macrophages are able to adapt their migration mode to the architectural properties of the extracellular matrix (ECM). The mesenchymal mode requires ECM proteolysis and is restricted to matrices with low porosity, while the amoeboid migration is used inside highly porous matrices. In macrophages, the mesenchymal migration requires podosomes, mechanosensitive protrusive structures that are composed of an F-actin core surrounded by adhesion complexes. The current model views the core and the cables as a two-module force-generation apparatus. Our aim is now to understand how podosome molecular architecture gives rise to force generation and rigidity-sensing.

The project proposed to the Master 2 student is part of an interdisciplinary research program that combines cutting-edge and innovative techniques in optical and electronic imaging, cell mechanics and material science, that will lead us to determine with nanoscale accuracy the molecular architecture of podosomes according to substrate rigidity, and identify key proteins regulating podosome architecture and protrusive force.

5 references :

Lastrucci C. et al. **Cell Research** (2015); Proag A. et al. **ACS Nano** (2015); Verollet C. et al. **Blood** (2015); Labernadie A. et al. **Nature Communications** (2014); Gui P. et al. **J. Cell Sci.** (2014)

« Proposition de stage et/ou de thèse »

Laboratoire : Laboratoire des BioMolécules, UMR7203, département chimie de l'ENS et univ. P06

Adresse : 24 rue Lhomond 75005 PARIS

Directeur du laboratoire : Sandrine Sagan

Équipe de recherche (si pertinent) : Equipe Peptide, glyconjugués et métaux en biologie

Responsable de l'équipe : JM Mallet

Responsable de stage : Clotilde Policar

Adresse électronique : clotilde.policar@ens.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED406

Profil recherché : chimiste, physico-chimiste, ou éventuellement biologiste, intéressé par l'interface chimie-biologie-physique

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : Financement ANR acquis

Titre du stage : Mimes de superoxyde dismutase : conception et études sur système cellulaire

Projet scientifique / *Scientific Project* :

1. Projet / *Project*

Au Laboratoire des BioMolécules (LBM), nous nous intéressons à des complexes de manganèse mimant l'activité des superoxyde-dismutases, qui sont des enzymes de protection contre le stress oxydant. Ces petits complexes, dits mimes de SOD, ont des propriétés des antioxydantes intéressantes dans une perspective thérapeutique.¹ Le site principal de production du superoxyde à l'intérieur de la cellule est la mitochondrie, l'organelle où est produite l'énergie de la cellule, et qui constitue le site à cibler pour de tels antioxydants. Les complexes que nous développons utilisent des ligands centrés sur un 1,2-diaminoéthane,² dont l'un des intérêts est la possible fonctionnalisation par des groupes variés : des sondes pour la détection et/ou des groupements favorisant la pénétration cellulaire et le ciblage à la mitochondrie (peptides vecteurs). Les complexes sont étudiés sur des modèles cellulaires du stress oxydant,³ en collaboration avec des médecins spécialistes des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (ER7-INSERM-hôpital Saint-Antoine).

At the LBM, we develop Mn-complexes mimicking the activity of superoxide-dismutases (SOD), which are metalloenzymes protecting cells against oxidative stress. These low-molecular weight complexes, called SOD-mimics, exhibit interesting anti-oxidant properties with potential bio-medical applications.⁴ In cells, superoxide is mainly produced at the mitochondria, a sub-cellular organelle responsible for energy production and which has to be protected against oxidative damages. The complexes from our group are built on ligands based on a 1,2-diamino-ethane central structure² (see Figure) to be functionalized by various moieties: probes for subcellular detection, and/or moieties to encourage cell-penetration and mitochondria targeting. The complexes are evaluated on cellular models of oxidative stress³ in collaboration with medical doctors specialized in inflammatory bowel diseases (hôpital Saint-Antoine).

Le projet comportera plusieurs volets :

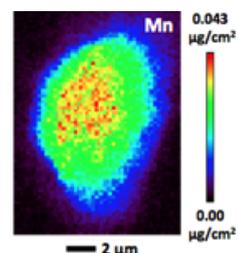
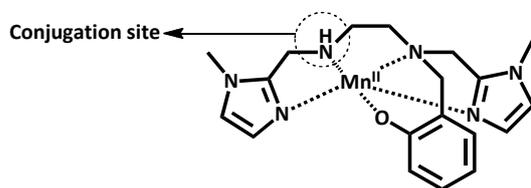
a) Synthèse de ligands fonctionnalisés et préparation des complexes correspondants. Le ligand de la figure ci-dessous sera fonctionnalisé par différents vecteurs ou sondes. Il pourra s'agir des peptides afin de favoriser la pénétration cellulaire, le ciblage vers la mitochondrie, ou la délivrance intestinale par incorporation dans des polymères. Des sondes de type (L)Re(CO)₃, développées par ailleurs au laboratoire, seront aussi greffées afin d'effectuer un suivi de la localisation.⁵ Ces sondes sont bimodales (fluorescence et IR), la bimodalité étant portée par un seul cœur moléculaire de type (L)Re(CO)₃ et nous les avons baptisées SCOMPIs (pour Single Core Multimodal Probe for Imaging). Elles présentent l'avantage de permettre une quantification aisée en spectroscopie IR.⁶

(b) Etudes sur cellules : protection contre le stress oxydant, dosage et cartographie intracellulaire. L'activité anti-oxydante sera évaluée sur un modèle cellulaire développé au laboratoire. Nous évaluerons les propriétés anti-oxydantes et différentes techniques pourront être mises en œuvre (techniques biochimiques classiques, mais aussi suivi de protéines oxydées en spectrométrie de masse). Nous chercherons à caractériser ces complexes dans l'environnement cellulaire : ils seront quantifiés par spectroscopie de résonance paramagnétique électronique et imagés dans les cellules (fluorescence classique, IR, fluorescence X).

The research project will include several aspects:

(a) Synthesis of functionalized ligands and complexes preparation. *The ligand indicated on the Figure above will be functionalized by various vectors or probes: peptides to favor cell penetration,*

mitochondria targeting, or intestinal delivery by incorporation into polymers or organometallic probes for IR and fluorescence detection to track these molecules inside cells. The organometallic probes are tri-carbonyl Re unit ((L)Re(CO)₃) developed in the laboratory and they are active both in luminescence and IR: we have named them SCoPMIs⁶ for Single Core Probe for Multimodal Imaging. We have shown recently that they enable an easy quantification using IR.⁶



Structure du complexe parent (**1**) (gauche) et cartographie en fluorescence X d'un Mn au sein de cellules épithéliales incubées en présence de **1** (cartographie réalisée au synchrotron APS-Argonne, USA)

Structure of the leading complex (**1**) (left) and mapping of Mn in an epithelial cell incubated with **1** using highly focused X-fluorescence beam at the APS-synchrotron (Argonne USA) (right)

(b) Cell-studies: protection against oxidative stress and intracellular mapping. The antioxidant activity will be evaluated in a cellular model developed in the laboratory, using conventional biochemical techniques and also mass spectrometry. We will aim at characterizing the complexes in a cellular environment: quantification will be determined using EPR spectroscopy, and sub-cellular mapping experiments will be performed to determine their sub cellular location, using classical fluorescence, IR-mapping or other techniques.

2. Techniques ou méthodes utilisées / Specific techniques or methods

Le projet permettra de développer des compétences variées en synthèse (ligands, peptides, synthèse de complexes organométalliques de type (L)Re(CO)₃) et d'acquérir des compétences en biochimie (culture cellulaire, techniques classiques de biochimie) et en imagerie cellulaire (fluorescence classique ou des techniques plus originales utilisant l'IR ou la fluorescence X. A plus long terme, une approche par spectrométrie de masse pour étudier les modifications cellulaires associées au stress oxydant sera aussi envisagée.

The project is thus multi-disciplinary: synthetic skills will be developed (ligands, peptides, organometallic complexes (L)Re(CO)₃); biochemical techniques (cell-culture, classical techniques in biochemistry) and technical skills in imaging will be acquired (classical fluorescence, or more original techniques such as IR-mapping or X-fluorescence). An approach in mass spectrometry will also be considered (on a longer term).

Ce travail fait partie d'un projet ANR financé sur la période 2016-2020 (MAGIC) et une bourse de thèse est envisageable pour la rentrée 2017.

This work will be part of an ANR project (MAGIC, 2016-2020) and a thesis fellowship will be open starting in September 2017.

3. Références / References

- (1) Batinic-Haberle, I.; Tovmasyan, A.; Roberts, E. R.; Vujaskovic, Z.; Leong, K. W.; Spasojevic, I. *Antioxid. Redox Signaling* **2014**, *20*, 2372 — (2) Cisnetti, F.; Lefevre, A. S.; Guillot, R.; Lambert, F.; Blain, G.; Anxolabéhère-Mallart, E.; Policar, C. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2007**, 4472 — (3) Bernard, A.-S.; Giroud, C.; Ching, H. Y. V.; Meunier, A.; Ambike, V.; Amatore, C.; Guille Collignon, M.; Lemaître, F.; Policar, C. *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 6399—(4) Batinic-Haberle, I.; Tovmasyan, A.; Roberts, E. R.; Vujaskovic, Z.; Leong, K. W.; Spasojevic, I. *Antioxid. Redox Signal.* **2014**, *20*, 2372—(5) Clède, S.; Lambert, F.; Sandt, C.; Gueroui, Z.; Plamont, M.-A.; Dumas, P.; Vessières, A.; Policar, C. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 772 —(6) Clède, S.; Policar, C. *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 942

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Matière et Systèmes Complexes UMR 7057

Adresse : Université Paris Diderot-Paris 7, Bâtiment Condorcet, CC 7056, 75205 Paris Cedex 13

Directeur du laboratoire : Laurent Limat

Équipe de recherche (si pertinent) : Dynamique et Organisation de la Matière Molle (DOMM)

Responsable de l'équipe : Alain Ponton

Responsable de stage : Alain Ponton

Adresse électronique : alain.ponton@univ-paris-diderot.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED 564 Physique en Ile de France

Profil recherché : Biophysique, Physique de la Matière et Biologie

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Allocation ED

Titre du stage :

Composites à base de biopolymères et de nanoparticules magnétiques fonctionnalisés pour application en régénération tissulaire modulée par champ magnétique.

Résumé :

Les matériaux supramoléculaires auto-assemblés élaborés avec des **polymères organiques** et des **nanoparticules inorganiques (NPs)** offrent des possibilités de développer des matériaux souples complexes et optimisés avec des propriétés optimales pour une grande variété d'applications. En même temps un certain nombre de thérapies ont vu le jour en raison des avancées dans le domaine des biotechnologies. En particulier les **nanocomposites en volume (NCs)** composés d'une matrice de polymères dans laquelle est introduite des particules sont utilisés comme biomatériaux aux propriétés modulables. Dans un grand nombre de travaux des polymères synthétiques ou réticulés chimiquement sont utilisés avec des incompatibilités pour des applications biomédicales. En outre, les **interactions entre les particules et les polymères** qui modifient les propriétés des NCs sont des questions encore ouvertes en particulier dans le cas de NPs.

Le projet proposé pluridisciplinaire vise un champ très actif et en constante évolution, celui des biomatériaux composites actifs. Nous proposons de combiner les propriétés magnétiques de **nanoparticules magnétiques (NMPs)** fonctionnalisés et de contrôler leurs interactions avec des **biopolymères** non toxiques, biocompatibles et biodégradables afin de développer de nouveaux matériaux magnétostimulables pour des applications biomédicales. Sur la base de premiers résultats obtenus [1], les NMPs seront synthétisés par un processus de polyol et puis fonctionnalisés par des ligands bifonctionnels avant introduction dans des réseaux de biopolymère (solutions et gels). Après élaboration, une analyse multi-échelle des propriétés mécaniques de ces nouveaux NCs sera réalisée à l'aide d'un nouveau **dispositif expérimental de magnéto-opto-rhéologie** [2]. En parallèle la structure sera étudiée par **diffusion** et **spectroscopie optique à fluorescence**.

Le potentiel d'application est de comprendre les mécanismes impliqués dans le **remodelage de la matrice extracellulaire** au cours d'une **lésion de la peau** et le traitement en présence et absence de ces NCs en évaluant, tout d'abord comment le champ magnétique et les propriétés de la matrice extracellulaire affectent les propriétés rhéologiques des NCs, sa biocompatibilité dans des conditions biologiques et d'autre part comment utiliser la force magnétique pour stimuler le **processus de cicatrisation**.

Le stage se déroulera principalement au laboratoire MSC. Cependant l'ensemble du projet réunit 3 laboratoires de l'Université Paris Diderot-Paris 7 et un laboratoire de l'Université Paris 13. En particulier la synthèse et la caractérisation des nanocharges magnétique se feront au laboratoire ITODYS (chimie, département de l'Université Paris Diderot Paris 7). Par ailleurs l'application pour la **régénération tissulaire** modulée par le champ magnétique sera élaborée en collaboration avec le groupe de photobiologie et Photomedicine à la Faculdade de Filosofia, e Ciências Letras de Ribeirão (**Centre de nanotechnologie et d'ingénieurs de tissus - FFCLRP-São Paulo Université Ribeirão Preto, SP, Brésil**). Le stage de master pourrait se poursuivre par un doctorat avec une collaboration internationale (Brésil ou l'Espagne).

[1] C. Galindo Gonzalez, S. Gantz, L. Ourry, F. Mammeri, S. Ammar-Merah, A. Ponton, *Elaboration and rheological investigation of magnetic sensitive nanocomposite biopolymer networks*, *Macromolecules* **47**, 3136-3144 (2014)

[2] C. Galindo-Gonzalez, A. Ponton, A. Bee, J. Chevalet, D. Talbot, R. Perzynski, E. Dubois, *Investigation of water-based and oil-based ferrofluids with a new magnetorheological cell: Effect of the microstructure*, *Rheologica Acta* **55**:1, 67-81 (2016)

Laboratoire : Adhesion et Inflammation, Inserm U1067 / CNRS UMR733

Adresse : Aix Marseille Université, Campus de Luminy, Marseille



Directeur du laboratoire : Olivier Théodoly, DR2 CNRS

Responsables de stage : Pierre-Henri Puech, CR1 Inserm / Laurent Limozin, CR1 CNRS

Adresses électronique : pierre.henri.puech@inserm.fr / laurent.limozin@inserm.fr

Profil recherché : Biologiste, Physicien, Médecin / **Possibilité de poursuite en thèse :** Oui

Titre du stage :

Single cell interrogation of mechanical determinants of T cell activation (under forces).

Résumé :

The key function of T-lymphocytes during an immune response is to scan the surface of surrounding cells via the T-cell receptor (TCR) and to detect the presence of foreign peptide antigens on antigen presenting cells (APC) among the many self-peptides presented by the Major Histocompatibility Complexes (MHC). The TCR-MHC interaction is required for activation of T-cells and subsequent proliferation and further differentiation into the different lymphocytes subclasses. Finally, TCR-MHC interactions provide constant "survival signals" for maintaining a steady population of memory cells, which constitute our long term immunity.

TCR dependant signalling must therefore be rapid and sensitive so as to productively detect the presence of very low numbers of foreign peptide antigen and at the same time be able to filter out the self-peptide/MHC generated « noise » so as not to harm normal tissue. How different TCR-peptide/MHC binding events are processed by the lymphocytes cellular signalling machinery remains a critically important question for both the development and the functioning of the adaptive immune response. Along these lines, the role of the cytoskeletal architecture of the T cell in the activation properties of those cells remains to be clearly established: it allows the T cells to exert forces on the APC, down to single molecule scale, and those forces have been proposed to be a key determinant for the capacity of the T cell to selectively and finely recognize foreign peptide and activate.

We will stand to investigate how micromechanical properties of T cells (such as adhesion, elasticity, membrane tension) are influenced / influencing the phenomenon of activation, using advanced biophysical techniques based on force application / measurement simultaneous to observation of activation reporters (such as Ca⁺⁺ sensitive dyes), allowing to measure eg. cell elasticity and adhesion while signalling is occurring. In this context, the way T cell micromechanical microenvironment crucially affects the capacity of T cell to answer to a controlled and defined cue will be analyzed, by graduated complexification of this microenvironment (cell / fonctionnal substrate, cell / APC, APC/ cell / APC) and / or perturbing it (using lipid modification of membranes, drugs against cytoskeleton components, antibodies against receptors, various APC cell types) in original ways.

The master student will be readily included in studies and developments using the available tools and others topics in the lab, around the thematic of cell micromechanical properties and transmission / integration of information through the cell's membrane, leading to modification of cell function and behaviour.

This topic built in collaboration with Y. Hamon (Centre d'Immunologie de Marseille Luminy) provides a unique approach to the interface of physics and biology in a young, highly cohesive and multidisciplinary environment (physicists, biologists and physicians) around a theme with strong applications in human health.

Available techniques@LAI

Atomic Force Microscopy (AFM) coupled to fluorescence microscopy, Optical Tweezers coupled with fluorescence microscopy, Micromanipulations / Biomembrane Force Probe (BFP), Fluorescence and TIRF microscopies, interference microscopy (RICM), Image processing, Micropatterning, human and murine cell cultures.

Selected references from LAI and collaborators

Nano-clustering of ligands on surrogate antigen presenting cells modulates T cell membrane adhesion and organization. Dillard P, Pi F, Lellouch AC, Limozin L, Sengupta K. Integr Biol (Camb). 2016 Mar 14;8(3):287-301.

Synchronizing atomic force microscopy force mode and fluorescence microscopy in real time for immune cell stimulation and activation studies. Cazaux S, Sadoun A, Biarnes-Pelicot M, Martinez M, Obeid S, Bongrand P, Limozin L, Puech PH. Ultramicroscopy. 2016 Jan;160:168-81.

Use of TIRF to Monitor T-Lymphocyte Membrane Dynamics with Submicrometer and Subsecond Resolution. Brodovitch A, Limozin L, Bongrand P, Pierres A. Cell Mol Bioeng. 2015;8(1):178-186.

Ligand-mediated friction determines morphodynamics of spreading T cells. Dillard P, Varma R, Sengupta K, Limozin L. Biophys J. 2014 Dec 2;107(11):2629-38.

Force measurements of TCR/pMHC recognition at T cell surface. Puech PH, Nevoltris D, Robert P, Limozin L, Boyer C, Bongrand P. PLoS One. 2011;6(7):e22344.

Barcoding T cell calcium response diversity with Methods for Automated and Accurate Analysis of Cell Signals (MAAACS). Salles A, Billaudeau C, Sergé A, Bernard AM, Phélipot MC, Bertaux N, Fallet M, Grenot P, Marguet D, He HT, Hamon Y. PLoS Comput Biol. 2013;9(9):e1003245

Atomic Force Microscopy : A Versatile Tool for Studying Cell Morphology, Adhesion and Mechanics Franz CM, Puech PH* Cellular And Molecular Bioengineering 1(4) :1865-5025 2008

Websites

<https://labadhesioninflammation.wordpress.com/>

<http://puechph.free.fr>

<http://laurentlimozin.free.fr/>

PROPOSITION DE SUJET DE STAGE DE M2 ET/OU DE THESE

Statistical protein evolution

Proteins recapitulate at a molecular scale much of our difficulty to develop a theory of living matter: we know precisely what constitutes a protein (a sequence of amino acids) but do not generally understand how the many "functions" that proteins perform (specific binding, catalysis, information transmission...) emerge from the interactions between their constituents.

Nature built proteins through the dynamical process of evolution by natural selection and our approach is to study the relation between protein sequence and function via this process. We combine experiments based on high-throughput microfluidics with theoretical models based on statistical physics to generate and analyze controlled evolutionary trajectories of proteins. The outputs of these trajectories are then compared with models inferred from natural protein sequences.

Experimentally, our current workflow consists in constructing libraries of millions of mutants of an enzyme, which we encapsulate one by one in mono-disperse droplets. The proteins in each droplet are expressed, assayed for enzymatic function using fluorescent assays and sorted into bins that correspond to each level of enzymatic activity. High-throughput sequencing of genes that encode the proteins in each bin yields quantitative information on the relation between sequence (genotype) and function (phenotype). We plan to use this set-up to generate millions of trajectories of protein evolution where we can follow each mutational event.

Theoretically, the observation that different organisms encode in their genomes proteins that have similar function despite dissimilar sequences indicates that the relation between sequence and function is highly degenerate. It should therefore be possible to construct coarse-grained descriptions of proteins that capture only the relevant information in the sequences. The challenge is to infer these descriptions from natural and experimental data and to explain them by developing new mathematical models that integrate the dynamics of darwinian evolution with constraints from physics.

Depending on the candidate's motivation, the project can combine quantitative experiments, statistical analyses and/or theoretical models. The project will take place in an interdisciplinary group of physicists and biologists, theoreticians and experimentalists, located at Collège de France in Paris.

References:

- A. Fallah-Araghi, J.-C. Baret, M. Ryckelynck, A.D. Griffiths (2012). *A completely in vitro ultrahigh-throughput droplet-based microfluidic screening system for protein engineering and directed evolution*. Lab Chip 12, 882.
- M. Hemery, O. Rivoire (2015). *Evolution of sparsity and modularity in a model of protein allostery*. Phys. Rev. E 91 : 042704.
- O. Rivoire, K. Reynolds, R. Ranganathan (2016). *Evolution-based functional decomposition of proteins*. PLoS Comput Biol, 12 : e1004817.
- S. Boyer, D. Biswas, A. K. Soshee, N. Scaramozzino, C. Nizak, O. Rivoire (2016). *Hierarchy and extremes in selections from pools of randomized proteins*. PNAS 113, 3482.

Contacts:

Olivier Rivoire olivier.rivoire@college-de-france.fr
Clément Nizak clement.nizak@college-de-france.fr
Center for Interdisciplinary Research in Biology (CIRB)
Collège de France, 11 place Marcelin Berthelot, 75005 Paris
Webpage: <http://statbio.net>

PROPOSITION DE STAGE DE M2 – ÉQUIPE *CELL DYNAMICS*

Laboratoire : Institut de Biologie Paris-Seine
Laboratoire de Biologie du Développement
UMR7622 CNRS
ERL 1156 INSERM

Adresse : 9, Quai St Bernard Bat C, 7^e étage, Case 24
75252 Paris cedex 05
France

Directeur du laboratoire : Sylvie Schneider-Maunoury

Équipe de recherche : Cell Dynamics – CADMO group

Responsable de l'équipe : François ROBIN

Responsable de stage : François ROBIN

Adresse électronique : francois.robin@upmc.fr
lab@cell-dynamics.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED 515
Diversité du vivant

Profil recherché : Physicien ou biologiste

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Bourse de thèse de l'école doctorale. Possibilité de financement par l'équipe.

Titre du stage : Role of actomyosin network anisotropy in the generation of contractile forces during morphogenesis in *C. elegans*

Résumé :

During embryogenesis, actomyosin is a major determinant of the mechanical properties of the cell, and drives morphogenesis at the cell and tissue level. This active material forms a complex cross-linked network beneath the cell surface – the cell cortex – that turns over rapidly and is weakly organized.

At this stage, we simply fail to clearly understand how the cell's biochemistry determines the dynamical architecture of this polymer, and how this translates into higher order mechanical properties. To make this important step, we need to build a picture of the system that is both dynamic and quantitative.

The central objective of the project is to explore the role of actomyosin network architecture on the generation of mechanical force *in vivo*.

Using *C. elegans* as a model system, we combine molecular genetics, single-molecule imaging, super-resolution techniques and numerical simulations to understand how cells generate forces during morphogenesis. In particular, we have established state-of-the-art single-molecule imaging techniques to measure polymer kinetics in developing embryos, and laser microsurgery to measure mechanical properties. Using these techniques, the master student will explore the role of the structural arrangement of the network on the generation of mechanical force, combining two distinct approaches.

First, the student will address this question in a specific dynamical process, pulsed contraction. We believe that structural anisotropy of the network plays a critical role in the ability of pulsed contractions to generate mechanical forces during embryonic development. Using single-molecule imaging, the student will track actin elongators of the formin family (CYK-1::GFP) as they polymerize the actin filaments to establish and quantify the structural anisotropy of the actin network.

Then, to understand how the structural anisotropy of the actin meshwork favors contraction, the student will develop an optogenetic tool to recruit the formin CYK-1 locally. Proof of concept of the individual optogenetic components has already been performed in the lab. With the support of a technician, the student will create transgenic lines that bear an optogenetically controlled formin (CYK-1::GFP::Cry-2), that can be recruited on demand at the cell surface. With this tool to modulate local actin assembly and structural anisotropy, the student will then address two essential questions: (1) how does structural anisotropy change the material properties of the actin, and (2) is structural anisotropy necessary/sufficient to promote local contraction of the network.

The candidate should feel comfortable developing skills in live imaging, quantitative image analysis and computer programming, and should expect to work at the interface between cell biology, biochemistry and physics, with scientist from diverse backgrounds. Finally, he/she should have a strong drive to implement and use cutting-edge techniques blending these fields to make important contributions to cell and developmental biology.

« PROPOSITION DE STAGE »

Laboratoire : Université Pierre et Marie Curie - Laboratoire des Biomolécules – UMR 7203

Adresse : Tour 23-33, 5^e étage, 4 place Jussieu, 75005 Paris

Directeur du laboratoire : Sandrine Sagan

Équipe de recherche (si pertinent) : Equipe 2 : Analyse et Interactions Moléculaires et Cellulaires

Responsable de l'équipe : Dominique Guianvarc'h

Responsables de stage : Sophie Cribier et Nicolas Rodriguez

Adresse électronique : sophie.cribier@upmc.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED388 : Chimie physique et chimie analytique de Paris Centre

Profil recherché : interface physique-biologie-biochimie

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : allocation attribuée par l'ED ou l'ANR (demande en cours)

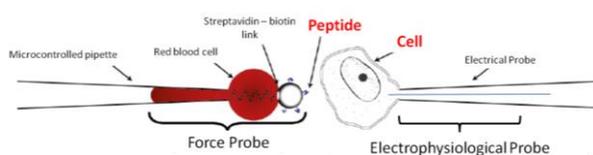
Titre du stage : Mechanism of entry into cells of Cell Penetrating Peptides

Résumé :

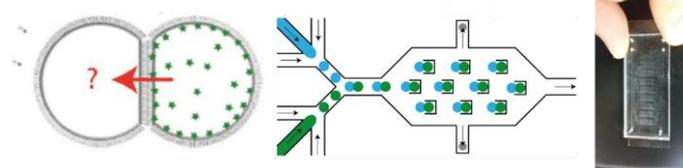
Cell Penetrating Peptides (CPPs) are a family of short, cationic peptides which share the surprising ability to enter into cells. Because they can retain this ability when bound to cargo molecules such as proteins or nucleic acids, they are a very promising tool for the vectorization of exogenous molecules into cells. These CPPs enter cells by two classes of mechanisms: they either take advantage of the endocytosis of the target cells or they directly cross the plasma membrane. The latter mechanism, named direct translocation, is especially interesting because it gives access to the CPP and its cargo to the cytoplasm where many molecular targets of the cargo lie. However the molecular mechanism of the direct translocation is poorly known. The aim of this internship (and of a possible subsequent PhD) is to determine the transient CPP-lipid structures which are formed when a CPP cross a cell or model membrane and find the factors that favor the CPP entry.

For this purpose two kinds of experiments are currently developed in our laboratory. The first is a coupling between Biomembrane Force Probe (BFP) and electrophysiological measurements (patch clamp). BFP is a force measurement tool that enables to determine the force of interaction between few CPPs and a target cell or vesicle. This force gives insights on the level of insertion of a CPP in a membrane and can also be used to find the partners of the CPP on the membranes. The patch clamp measurements reveal a possible destabilization of the membrane that can come with the formation of transient CPP-lipid structures when the CPP enters the membranes. The coupling of these measurements is original, the setup is almost functional and the intern will help to conduct the first experiments.

The second kind of experiments is the optimization of a microfluidic device that will enable us to form pairs of micrometric water droplets in oil separated by an artificial bilayer. This is a very versatile tool to observe the crossing of a membrane by fluorescently labeled CPPs. This will be used to determine the factors that favor this crossing and help a better choice or design of the CPPs. The observation of CPP crossing bilayers has already been obtained in the laboratory but the implementation of the microfluidic devices to form the pairs of droplets will lead to greatly improved throughput of the observations and the testing of many factors that are currently not accessible. The intern will help finalize the choice of the best microfluidic chips and test some of them to observe CPP crossing.



Coupled BFP – Patch clamp



Pair of droplets formation with microfluidic device

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : IMNC (Imagerie et Modélisation en Neurobiologie et Cancérologie) – CNRS 8165

Adresse : Campus Université Paris-Sud- Bât. 440 – 91405 Orsay

Directeur du laboratoire : P. Lanière

Équipe de recherche (si pertinent) : Modélisation des Systèmes Biologiques

Responsable de l'équipe : M. Badoual

Responsable de stage : O. Seksek

Adresse électronique : seksek@imnc.in2p3.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED PIF

Profil recherché : Physicien intéressé par la biologie cellulaire et par la modélisation

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

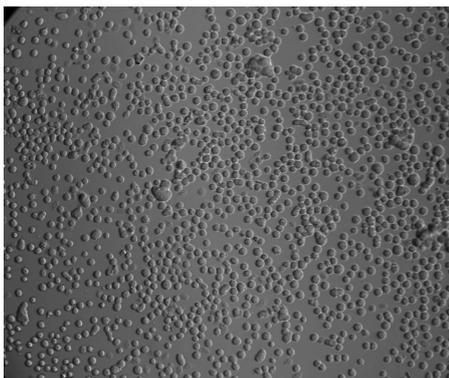
Si oui financement envisagé : Idex Paris-Saclay/ED PIF

Titre du stage : Suivi et modélisation de la croissance de cellules tumorales sur hydrogels synthétiques

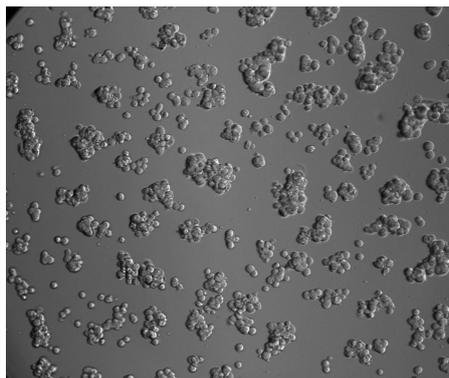
Résumé :

Le développement de systèmes synthétiques capables de mimer *in vitro* la croissance de tumeurs *in vivo* est un champ expérimental en plein essor. En effet, il a été démontré que la progression tumorale est non seulement due à des facteurs phénotypiques (mutations), mais également à un réseau complexe d'interactions entre les cellules et leur environnement par des stimuli épigénétiques et/ou mécaniques. Dans ce cadre, la matrice extracellulaire (ECM) joue un rôle crucial. Pour pouvoir étudier les relations entre cellules et ECM, la culture cellulaire 2D classique montre ses limites en termes de pertinence biologique; il est donc indispensable de formuler un micro-environnement 3D capable de ressembler à la structure de l'ECM de tissus sains ou pathologiques. Les matériaux naturels de type Matrigel présentent une certaine complexité quant à leur composition et la variabilité de cette composition. De plus, ils ne sont pas facilement ajustables. C'est pourquoi, dans le but de s'affranchir de ces inconvénients, des matériaux synthétiques ont été développés pour fournir une matrice de croissance aisément modifiable. Parmi eux, les hydrogels formés de polymères ont une place de choix.

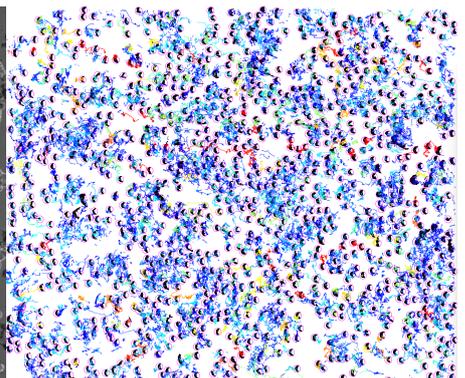
Dans ce sujet de stage, nous proposons d'étudier la croissance cellulaire (migration et prolifération) de lignées de gliome (tumeur cérébrale) de souris sur un hydrogel formé de PEG (polyéthylène glycol) photopolymérisé. Cette molécule, inerte d'un point de vue cellulaire, permet d'obtenir des gels aqueux modulables en concentration et sur lesquels peuvent être également greffées des molécules permettant un accrochage cellulaire. Après mise en contact de ces différents hydrogels avec une population cellulaire, les cellules sont incubées directement sur une platine de microscope à épifluorescence, et la croissance suivie sur plusieurs heures (de 24 heures à 5 jours). Nous avons mis en évidence le fait que le suivi dans le temps de la formation des agrégats de cellules permet de discriminer des comportements différents en fonction de la concentration en gels et des facteurs d'accrochage utilisés. Au cours de ce stage, il s'agira de tester de nouvelles molécules dans la formulation des gels sur la croissance tumorale *in vitro*, et d'obtenir des suivis de croissance reproductibles, mais également, de développer un modèle et de simuler le comportement des cellules sur les différents substrats. Ce modèle sera comparé aux données issues des films de suivi.



Cellules sur gel juste après dépôt



Formation d'agrégats (2h)



Reconstitution des trajectoires

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Physico-Chimie Curie

Adresse : 11 rue Pierre et Marie Curie, 75231 Paris Cedex 05

Directeur du laboratoire : Maxime Dahan

Équipe de recherche (si pertinent) : Physical approaches to Biological Problems

Responsable de l'équipe : Pierre Sens

Responsable de stage : Pierre Sens

Adresse électronique : pierre.sens@curie.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : EDPiF

Profil recherché : Physicien (thèse théorique)

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

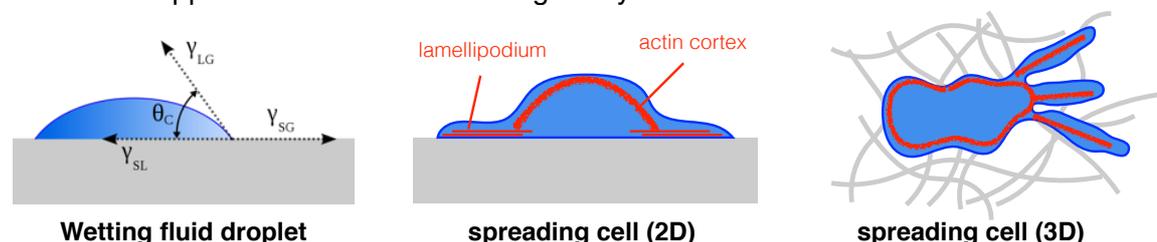
Si oui, financement envisagé : ED

Titre du stage : Lamellipodium initiation in spreading cells

Résumé : Most cells spread on flat substrates because cell-substrate adhesion. While the initial stage of spreading resembles the spreading of a liquid droplet (wetting), reorganisation of the actin cytoskeleton leads to the formation of a flat and dynamic cellular protrusion around the cell edge called *the lamellipodium*. A breaking of symmetry then often leads to *cell polarisation* and crawling.

Lamellipodium initiation is often described at the molecular level by the enrichment of specialised actin associated proteins promoting actin branching, capping and severing.

During this internship, we will investigate *Lamellipodium initiation* by constructing a coarse-grained model of the actin network which will concentrate on generic physical mechanism rather than specific molecular details. The reorganisation of the actin cytoskeleton will be coupled to the local mechanical stress in the cytoskeleton, and to the morphology of the cell interface. This project at the interface between non-equilibrium Statistical Physics and the theory of Soft Matter, is suited for Physics students keen to use theoretical approaches to describe biological systems.



The model uses the theory of *active gels* growing on deformable interfaces to monitor the coupling between the gel orientation parameter and the interface morphology. Linear stability analysis will be used to determine the condition for the onset of cell polarisation and crawling. The large deformation limit will be investigated using shape parametrisation or full-scale numerical simulations, depending on the candidate proficiency in numerical methods. Extension of the initial project will include the study of cells in three-dimensional matrices, which often show multiple, lamellipodium-like protrusions.

Other internship projects on theoretical modelling of biological systems, in particular related to the active mechanics of cells and tissues, and the spatio-temporal organisation of living cells, are available. [website](#)

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire de Chimie Physique (LCP)

Adresse : Bât 349 Avenue Jean Perrin, Université Paris Sud, 91405 Orsay

Directeur du laboratoire : Philippe Maitre

Équipe de recherche (si pertinent) : Rayonnements ionisants et Biosystèmes

Responsable de l'équipe : Cécile Sicard-Roselli

Responsable de stage : Cécile Sicard-Roselli

Adresse électronique : cecile.sicard@u-psud.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : 2MBI n°571

Profil recherché : avoir un intérêt pour l'interface physico-chimie/biochimie-biologie

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : bourse ministérielle

Titre du stage : Elaboration et comparaison de nanoparticules radiosensibilisantes

Résumé :

Ce projet vise l'amélioration des traitements par radiothérapie grâce à des nanoparticules. Depuis les premières études, très prometteuses, menées il y a 10 ans, la translation vers la clinique se fait attendre. Une raison majeure est l'absence de consensus sur le couple nanoparticule/rayonnement optimal, résultant de la complexité de mécanismes mis en jeu et du manque de standardisation de nombreuses expériences.

La première partie de ce stage est la synthèse et caractérisation de nanoparticules d'or, de bismuth et de diamants, de taille contrôlée. Basée sur des travaux préliminaires de l'équipe d'accueil, la fonctionnalisation envisagée est l'accrochage de peptide d'internalisation (Cell-penetrating peptide, CPP) assurant une internalisation importante des nanoparticules dans des cellules de cancer du sein triple négatif. La seconde partie de ce projet vise à quantifier les radicaux hydroxyle émis par les nanoparticules soumises à une irradiation. Cette quantification est primordiale puisque ces radicaux oxydants sont responsables de dégâts majeurs au sein des cellules. Différentes sources de rayonnement utilisées en clinique seront utilisées. Cela nous amènera à définir le couple nanoparticule/source de rayonnement la plus efficace. En plus de ces radicaux, les électrons émis par les nanoparticules seront étudiés afin d'avoir une description complète du phénomène physique mis en jeu, description nécessaire pour enrichir les simulations numériques.

Ce projet interdisciplinaire et ambitieux a pour objectif d'obtenir une nanoparticule très efficace pour des applications en radiothérapie et de déterminer les sources d'irradiations bénéficiant au maximum de cet ajout d'efficacité.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire de Chimie Physique (LCP)

Adresse : Bât 349 Avenue Jean Perrin, Université Paris Sud, 91405 Orsay

Directeur du laboratoire : Philippe Maitre

Équipe de recherche (si pertinent) : Rayonnements ionisants et Biosystèmes

Responsable de l'équipe : Cécile Sicard-Roselli

Responsable de stage : Cécile Sicard-Roselli

Adresse électronique : cecile.sicard@u-psud.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : 2MBI n°571

Profil recherché : avoir un intérêt pour l'interface physico-chimie/biochimie-biologie

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : bourse ministérielle

Titre du stage : Pourquoi certaines protéines sont-elles très efficaces à capter les radicaux émis lors d'un stress oxydant ?

Résumé :

Les nombreux travaux portant sur l'impact du stress oxydatif ont montré une grande variabilité de la capacité des protéines à capter des radicaux oxydants. Afin d'identifier certains paramètres responsables de cette réactivité, nous proposons de soumettre plusieurs protéines ou peptides à différents radicaux tels que le radical hydroxyle ou l'anion superoxyde. Ces radicaux seront produits sélectivement par irradiation en solution aqueuse en présence ou non de capteurs spécifiques. L'identification et la quantification des dégradations radio-induites seront déterminées par des méthodes d'analyse physico-chimiques et biochimiques (spectroscopies optiques, électrophorèse, HPLC, spectrométrie de masse, ...). Elles seront ensuite mises en relation avec les propriétés structurales des protéines ainsi que leur activité biologique. Selon le profil du candidat, des expériences pourront être menées pour savoir si les dommages observés persistent en cellule vivante (microscopie de fluorescence, western blot).

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : PhysicoChimie Curie – Institut curie

Adresse : 11, rue Pierre et Marie Curie – 75005 Paris

Directeur du laboratoire : M. Dahan

Équipe de recherche (si pertinent) : PhysicoBiologie aux MésoEchelles

Responsable de l'équipe : Pascal Silberzan

Responsable de stage : Pascal Silberzan

Adresse électronique : pascal.silberzan@curie.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED PIF 564

Profil recherché : Physicist or Biologist motivated by experimental work in quantitative cell biology

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : concours ED

Titre du stage : **Collective behavior of a mixture of tumor cells and fibroblasts**

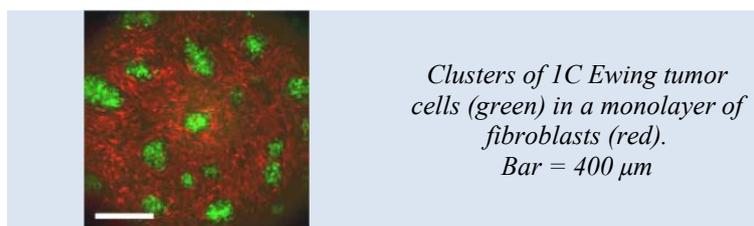
Résumé :

The behavior of multicellular tissues results from the coordinated collective behavior of ensembles of cells. In vivo, these cells populations cope with their microenvironment involving not only the extracellular matrix but also other types of cells. For example, epithelial tumors that grow within healthy tissues are confined by a basal membrane and have to cope with dense populations of fibroblasts. It appears clear that the growth of these tissues is under the control of biochemical and mechanical cues.

In recent years, we have investigated the collective behavior of several types of cells. In particular, we have shown that fibroblasts or other spindle-shaped cells tend to adopt a common orientation amounting to a “nematic” order. Upon confinement of these monolayers in micropatterned stripes or disks, the architecture of the monolayer in terms of cell alignment and positioning of the intrinsic orientation defects, is largely controlled by the shape and size of the domains.

We now plan to co-culture these fibroblasts with Ewing tumor cells, mimicking that way a well-documented in vivo system. Our first experiments show that these two cell types do not mix (a process called “cell sorting”). The tumor cells form clusters in direct contact with the fibroblasts. We now plan to quantify how the fibroblasts' organization is affected by the presence of the tumor cells and how the anisotropic pressure due to the nematic ordering of the fibroblasts affects the shape of the clusters of tumor cells. These experiments will again be coupled to micropatterning: the shape and position of the clusters of cancer cells in the domains will be followed in time and space.

This project is developed in collaboration with several groups of biologists and theoreticians at Institut Curie and ENS.



Selected recent publications

- Duclos G., Erenkämper C., Joanny J.-F., Silberzan P.: *Topological defects in confined populations of spindle-shaped cells*. Nat. Phys. In press (2016)
- Wagstaff L., Goschorska M., Kozyrska K., Duclos G., Kucinski I., Chessel A., Hampton-O'Neil L., Bradshaw C., Allen G., Rawlins E., Silberzan P., Salas R.E.C., Piddini E.: *Mechanical cell competition kills cells via induction of lethal p53 levels*. Nat. Commun. **7**, (2016), 11373.
- Yevick H.G., Duclos G., Bonnet I., Silberzan P.: *Architecture and migration of an epithelium on a cylindrical wire*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **112**, (2015), 5944.
- Deforet M., Hakim V., Yevick H., Duclos G., Silberzan P.: *Emergence of collective modes and tridimensional structures from epithelial confinement*. Nat. Commun. **5**, (2014), 3747.
- Duclos G., Garcia S., Yevick H. G., Silberzan P.: *Perfect nematic order in confined monolayers of spindle-shaped cells*. Soft Matter **10**, (2014), 2346.
- Reffay M., Parrini M. C., Cochet-Escartin O., Ladoux B., Buguin A., Coscoy S., Amblard F., Camonis J., Silberzan P.: *Interplay of RhoA and mechanical forces in collective cell migration driven by leader cells*. Nat. Cell. Biol. **16**, (2014), 217.
- Deforet M., Parrini M. C., Petitjean L., Biondini M., Buguin A., Camonis J., Silberzan P.: *Automated Velocity Mapping of Migrating Cell Populations (AVeMap)*. Nat. Meth. **9**, (2012), 1081.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : IMPMC

Adresse : UPMC, IMPMC, Case courrier 115; 4, place Jussieu, 75252 Paris cedex 05

Directeur du laboratoire : Guillaume Fiquet

Équipe de recherche (si pertinent) : Bioinformatique – Biophysique, Prédiction des structures protéiques

Responsable de l'équipe : Jacques Chomilier

Responsable de stage : Dirk Stratmann

Adresse électronique : dirk.stratmann@impmc.upmc.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED397, Physique et chimie des matériaux

Profil recherché : Biophysicien(ne) aimant la modélisation. Des connaissances en simulation par dynamique moléculaire, ainsi que la programmation en python ou C++ sont souhaitables mais pas obligatoires.

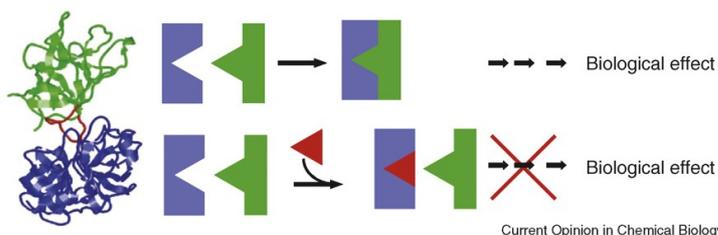
Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Bourse du ministère via ED ou programme IPV (UPMC)

Titre du stage : Étude par simulation de dynamique moléculaire de l'interaction de la caspase 3 avec des peptides cycliques issus de son interface de dimérisation

Résumé :

L'inhibition des interactions entre protéines globulaires joue un rôle de plus en plus important dans le développement de nouveaux médicaments (« drug design ») [1]. Les peptides sont particulièrement prometteurs pour cibler un site d'interaction entre deux protéines [2], notamment quand ils proviennent d'un fragment de l'interface [3,4] (voir figure). Les peptides linéaires ont par contre le désavantage d'être rapidement dégradés par les protéases, ce qui reste un problème majeur pour leur utilisation en tant que médicament. Pour cela nous proposons ici de cycliser les fragments issus de l'interface, comme les peptides cycliques sont moins sujets à la dégradation par les protéases. Les peptides cycliques ainsi obtenus gardent leur conformation initiale relativement bien. Cette propriété en fait des inhibiteurs des interactions entre protéines particulièrement performants, comme la perte d'entropie lors de la liaison à la protéine est plus faible que pour des peptides linéaires flexibles. Grâce au *protein design* des peptides cycliques « hyper-stables » ont pu être développés *de novo*, ce qui montre l'intérêt majeur des peptides cycliques dans le drug design [5].



Le but de ce stage est d'appliquer cette approche sur le dimère de la caspase-3, qui est étudié expérimentalement par nos collaborateurs à l'UPMC (Chahrazade El Amri (PU-UPMC) et Etienne Jacotot (DR-INSERM), IBPS, UMR 8256, Adaptation Biologique et Vieillesse). Les caspases sont une famille de cystéine protéases impliquées dans l'apoptose. Leur dérégulation est un facteur clé dans plusieurs pathologies, comme les maladies d'Alzheimer et de Parkinson ou le cancer. La caspase-3 est

parmi les caspases celle qui est le plus étudiée structuralement. Une étude récente a même cherché à comprendre le rôle des molécules d'eau conservées parmi plusieurs structures cristallographiques de la caspase-3 [6].

Les fragments de l'interface du dimère caspase-3 seront sélectionnés dans un premier temps manuellement, puis cyclisés (N-ter avec C-ter) à l'aide du logiciel Chimera. Les paysages conformationnels de ces peptides cycliques seront ensuite explorés par un algorithme issu de la robotique, le T-RRT [7], qui est en train d'être adapté aux peptides cycliques par notre doctorante, Maud Jusot, en collaboration avec l'équipe de Juan Cortes au LAAS à Toulouse. Maud Jusot co-encadrera ce stage.

Cette technique permettra de sélectionner les meilleurs peptides en terme de stabilité conformationnelle. Pour les meilleurs peptides ainsi sélectionnés des simulations par dynamique moléculaire en solvant explicite seront produites lors du stage pour étudier l'interaction de ces peptides avec un monomère de la caspase-3. Comme site d'interaction on supposera que le site sera conservé par rapport au dimère de la caspase-3 (voir figure plus bas). On pourra alors simuler l'approche du peptide à l'interface, ce qui devrait donner des informations sur le processus de désolvatation de l'interface, donc le rôle de l'eau dans le mécanisme d'interaction. De plus on pourra produire une simulation avec le complexe peptide-caspase déjà formé, pour affiner la structure finale et avoir une première idée de la stabilité du complexe.

Le rôle de l'eau dans le mécanisme d'interaction sera analysé plus en détail avec les outils développés par l'équipe de Damien Laage (UMR CNRS-ENS-UPMC 8640). Ses travaux ont pu expliquer avec un modèle théorique la dynamique de l'eau à la surface d'une protéine [8,9].

Des connaissances en simulation par dynamique moléculaire, ainsi que la programmation en python ou C++ sont souhaitables.

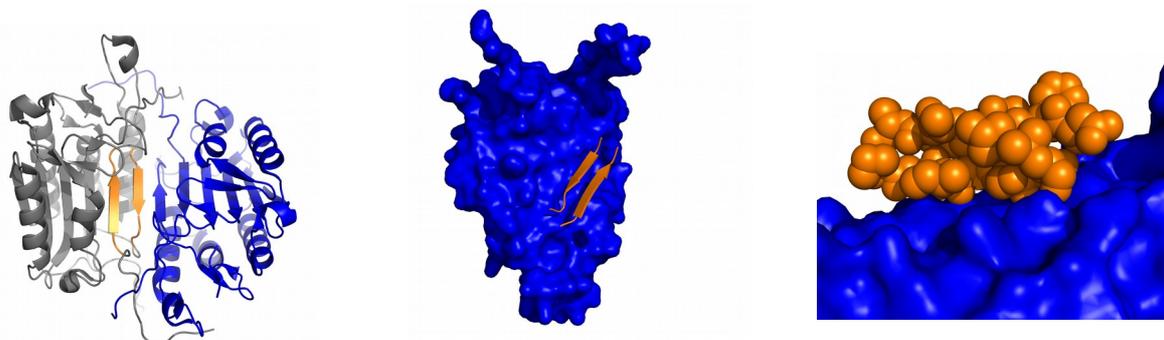


Figure : Caspase 3 (PDB 2J30) : fragment à l'interface en orange avec bonne complémentarité de surface.

Références

- [1] J. A. Wells et C. L. McClendon, « Reaching for high-hanging fruit in drug discovery at protein–protein interfaces », *Nature*, vol. 450, n° 7172, p. 1001-1009, déc. 2007.
- [2] S. M. Bertin-Maghit, C. J. Capini, N. Bessis, J. Chomilier, S. Muller, A. Abbas, L. Autin, J.-L. Spadoni, J. Rappaport, A. Therwath, M.-C. Boissier, et J.-F. Zagury, « Improvement of collagen-induced arthritis by active immunization against murine IL-1beta peptides designed by molecular modelling », *Vaccine*, vol. 23, n° 33, p. 4228-4235, juill. 2005.
- [3] N. London, B. Raveh, D. Movshovitz-Attias, et O. Schueler-Furman, « Can self-inhibitory peptides be derived from the interfaces of globular protein–protein interactions? », *Proteins*, vol. 78, n° 15, p. 3140-3149, nov. 2010.
- [4] N. London, B. Raveh, et O. Schueler-Furman, « Druggable protein–protein interactions – from hot spots to hot segments », *Curr. Opin. Chem. Biol.*, vol. 17, n° 6, p. 952-959, déc. 2013.
- [5] G. Bhardwaj et al., « Accurate de novo design of hyperstable constrained peptides, » *Nature*, Sep. 2016.
- [6] J. J. Maciag, S. H. Mackenzie, M. B. Tucker, J. L. Schipper, P. Swartz, and A. C. Clark, « Tunable allosteric library of caspase-3 identifies coupling between conserved water molecules and conformational selection, » *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 113, no. 41, pp. E6080–E6088, Oct. 2016.
- [7] Jaillet L, FJ Corso, JJ Perez, J Cortes (2011) Randomized tree construction algorithm to explore energy landscapes. *J Comput Chem* 32:3464-3474
- [8] D. Laage et J. T. Hynes, « A Molecular Jump Mechanism of Water Reorientation », *Science*, vol. 311, n° 5762, p. 832-835, oct. 2006.
- [9] A. C. Fogarty, E. Duboué-Dijon, F. Sterpone, J. T. Hynes, et D. Laage, « Biomolecular hydration dynamics: a jump model perspective », *Chem. Soc. Rev.*, vol. 42, n° 13, p. 5672-5683, juin 2013.

Proposition de stage de M2

Année universitaire 2016 - 2017

1. Equipe d'Accueil:

CNRS-CEA-Univ. Paris-Saclay, Institut de Biologie Intégrative de la Cellule (I2BC - UMR 9198)

Equipe : Enveloppe nucléaire, télomères et réparation de l'ADN ; responsable : Sophie Zinn-Justin

Bât 144 – CEA Saclay – 91190 Gif-sur-Yvette, <http://www.i2bc.paris-saclay.fr/spip.php?article168&lang=en>

Encadrant : François-Xavier Theillet (CR1-CNRS)

Tél : 0169089921 ; **E-Mail** : francois-xavier.theillet@cnrs.fr

2. Champs disciplinaires :

Biochimie, Biophysique, Biologie structurale, Biologie cellulaire

3. Sujet:

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

Nous avons développé récemment des méthodes pour la biologie structurale dans les cellules procaryotes et eucaryotes (y compris mammifères). Il est ainsi possible d'observer par spectroscopie RMN une protéine à l'échelle atomique et dans un environnement complexe grâce au filtre isotopique ^{15}N ou ^{13}C . Nous avons mis à profit cette opportunité pour caractériser dans des cellules neuronales la structure de l' α -synucléine ¹, 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, 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, ...).

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 se focaliser sur les aspects de l'étude 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-traductionnelles.

4. Publications.

1- Theillet FX et al. (2016) *Structural disorder of monomeric α -synuclein persists in mammalian cells*. **Nature**. 530 : 45-50.

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

- 3- Borchers W. et al. (2014) *Disorder and residual helicity alter p53-Mdm2 binding affinity and signaling in cells.* **Nature Chemical Biology.** 10:1000-1002.
- 4- Theillet FX et al. (2013) *Site-specific NMR mapping and time-resolved monitoring of S/T phosphorylation.* **Nature Protocols.** 8 :1416-1432.
- 5- Smith MJ et al. (2015) *Real-time NMR monitoring of biological activities in complex physiological environments.* **Current Opinion in Structural Biology.** 32 :39-47.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire Jean Perrin

Adresse : 4 place Jussieu, Tour 32-33

Directeur du laboratoire : Didier Chatenay

Équipe de recherche (si pertinent) :

Responsable de l'équipe : Nelly Henry

Responsable de stage : Nelly Henry / Philippe Thomen

Adresse électronique : nelly.henry@upmc.fr ; philippe.thomen@upmc.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED388 Chimie physique et chimie analytique de Paris Centre

Profil recherché : expérimentateur

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : ED

Titre du stage : Dynamique et propriétés physiques des biofilms bactériens

Résumé :

Contexte : La plupart des bactéries ont la capacité de s'ancrer aux surfaces et aux interfaces en développant des architectures tridimensionnelles où elles acquièrent des propriétés spécifiques. Ces structures, dites biofilms, interviennent dans les activités humaines dans des domaines aussi variés que la médecine, l'industrie agro-alimentaire, la navigation ou le traitement des eaux, mais aussi dans les grands équilibres environnementaux. La découverte des lois qui régissent les activités de ce matériau vivant requiert des approches multidisciplinaires allant de la physique à la biologie des systèmes.

Notre équipe travaille à mettre au point des approches quantitatives visant à caractériser les propriétés physiques, la dynamique et les interactions présentes dans ces biofilms. Nous utilisons pour cela des techniques de microfabrication de systèmes millifluidiques, d'imagerie optique et analyse d'image, et nous développons des sondes fluorescentes moléculaires et colloïdales afin d'extraire des paramètres physiques et des grandeurs chimiques du système.

Nous travaillons sur différents modèles biologiques du plus simple — mono-espèce de laboratoire comme le biofilm d'*E. coli* — au plus complexe — multi-espèces issu du milieu naturels comme le biofilm épilithique de rivière. Ces approches sont menées en étroite collaboration avec des équipes de biologistes de l'INRA et du Muséum National d'Histoire Naturelle.

L'objectif du stage sera de réaliser la caractérisation des propriétés physiques^{1,2} du biofilm bactérien à partir du suivi de microparticules fluorescentes insérées dans le biofilm (voir figure ci-dessous). Les modules visco-élastiques seront extraits de l'analyse des trajectoires, c'est-à-dire de l'étude de la variation temporelle du déplacement quadratique moyen des particules. Ces données apporteront des informations inédites sur l'assemblage de la matrice extra-cellulaire dans les communautés bactériennes mixtes.

Le stage est appelé à se poursuivre par une thèse dédiée à l'étude du lien des trajectoires cellulaires avec les propriétés mécaniques dans ces matériaux vivants que sont les biofilms.

1. Galy et al., *Biophys J*, 2012.

2. Zrelli et al., *New J Phys*, 2013.

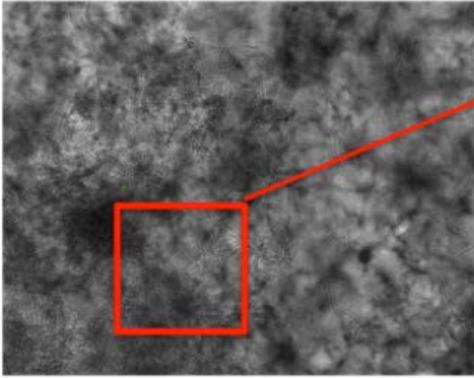


Image de microscopie optique du biofilm. Obj. 20x. Selection $50 \times 50 \mu\text{m}^2$

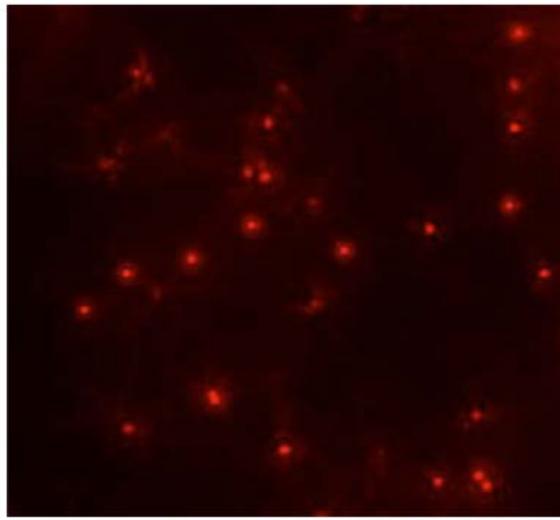
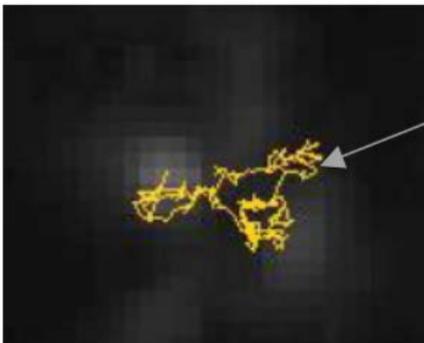
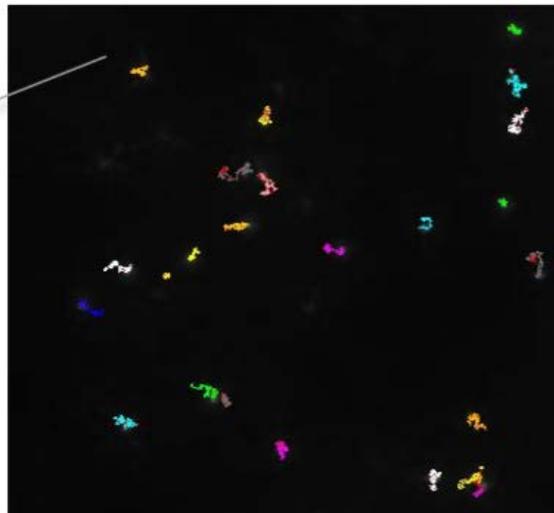


Image de fluorescence de la zone sélectionnée ci-contre. Visualisation des microparticules (diamètre $1 \mu\text{m}^2$).



Zoom sur une trajectoire



On détecte les trajectoires de toutes les particules.

Proposition de stage et/ou de thèse

Laboratoire : Institut Interdisciplinaire de Neurosciences (UMR 5297) CNRS - Université de Bordeaux

Adresse : 146 rue Léo Saignat, 33077 Bordeaux

Directeur du laboratoire : Daniel CHOQUET

Équipe de recherche: Molécules d'Adhérence Cellulaire dans l'Assemblage des Synapses

Site internet: www.iins.u-bordeaux.fr/team-thoumine-17?lang=en

Responsable de l'équipe : Olivier THOUMINE, DR2 CNRS

Responsable de stage : Matthieu LAGARDERE, doctorant 4^{ème} année

Adresse électronique : olivier.thoumine@u-bordeaux.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :

Ecole Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé (Univ Bordeaux)

Profil recherché : Ingénieur ou biologiste cellulaire, notions en imagerie et neurosciences

Possibilité de poursuite en thèse : OUI, si classement au concours de l'Ecole Doctorale de Bordeaux

Si oui financement envisagé : Bourse ministérielle ou financement acquis par l'équipe (Fondation pour la Recherche Médicale/Agence Nationale pour la Recherche)

Titre du stage : Imagerie quantitative de la dynamique de molécules membranaires individuelles

Résumé :

DESCRIPTIF :

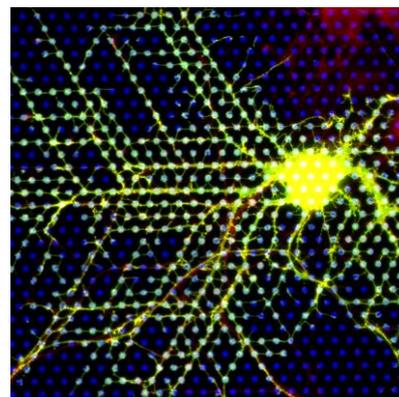
La formation de contacts entre cellules nerveuses, les synapses, est un processus essentiel au développement du cerveau et à l'apprentissage. Les complexes d'adhérence neurexine/neuroligine jouent un rôle fondamental dans la différenciation synaptique, et sont associés à plusieurs désordres neurologiques tels que l'autisme et le retard mental. Notre équipe a mis en place depuis plusieurs années des approches d'imagerie de super-résolution pour suivre la dynamique de ces molécules d'adhérence dans la membrane des neurones, ainsi que des simulations numériques pour interpréter quantitativement nos expériences (Saint-Michel et al. *Biophys J* 2009; Mondin et al. *J Neurosci* 2011; Czöndör et al. *PNAS* 2012 ; Giannone et al. *Cell Reports* 2013). En collaboration avec la compagnie CYTOO nous avons mis au point la culture de neurones sur substrats micropatternés recouverts de molécules d'adhérence neuronales (Czöndör et al., *Nat Comm* 2013 ; Garcia et al., *PNAS* 2015).

OBJECTIFS :

Pour l'imagerie de molécules individuelles, nous avons récemment développé une nouvelle méthode de marquage des protéines d'adhérence synaptiques, à l'aide d'un petit ligand, la streptavidine monomérique (Chamma et al., *Nature Comms* 2016). Cette approche est compatible avec un grand nombre de techniques d'imagerie dites de super-résolution telles que PAINT, STED, et STORM (prix Nobel de Chimie 2014). Nous voulons maintenant appliquer cette détection de molécules individuelles à des cellulesensemencées sur des substrats micropatternés, afin de quantifier précisément leurs interactions moléculaires dans le temps et dans l'espace. Les données expérimentales seront systématiquement corrélées à un modèle théorique, en jouant sur les paramètres dynamiques et photophysiques via un simulateur des expériences d'imagerie en cours de finalisation (Lagardère et al., en préparation).

METHODOLOGIE : Nous utiliserons une gamme d'approches expérimentales:

- 1/ Préparation de substrats micropatternés recouverts de neurexine purifiée.
- 2/ Culture de cellules hétérologues (COS) et neurones primaires sur ces substrats
- 3/ Electroporation de neuroligine recombinante, et marquage avec des ligands fluorescents.
- 4/ Imagerie photonique haute résolution par détection de molécules individuelles (PAINT, STORM).
- 5/ Exploitation d'un logiciel de simulation numérique existant pour interpréter quantitativement les expériences.



« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire des Maladies Neurodégénératives (UMR CEA-CNRS 9199)

Adresse : CEA Fontenay-aux-Roses, MIRCen (bâtiment 61), 18 route du panorama, 92260 Fontenay-aux-Roses

Directeur du laboratoire : Emmanuel Brouillet

Équipe de recherche (si pertinent) : Groupe de spectroscopie RMN *in vivo*

Responsable de l'équipe : Julien Valette

Responsable de stage : Julien Valette

Adresse électronique : julien.valette@cea.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED 575 - Electrical, Optical, Bio-physics and Engineering (EOBE)

Profil recherché : Ingénieur et/ou Physicien

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : Bourse MESR, IDEX, ou financement CEA

Titre du stage : Evaluation des altérations de la morphologie cellulaire par spectroscopie RMN pondérée en diffusion *in vivo* dans un contexte neuropathologique

Résumé : La spectroscopie RMN *in vivo* pondérée en diffusion permet de mesurer le mouvement des principaux métabolites cérébraux (glutamate, créatine, choline, NAA, myo-inositol, taurine...) de manière non-invasive (1,2). Ces métabolites étant exclusivement intracellulaires, leur diffusion dépend seulement du milieu intracellulaire, en particulier de la viscosité du cytosol, et est également fortement contrainte par la présence des membranes cellulaires.

Notre groupe est très impliqué dans ce domaine de recherche. Nous avons récemment montré, en augmentant la durée pendant laquelle le déplacement des métabolites est mesuré (le « temps de diffusion » t_d) jusqu'à des échelles de l'ordre de la seconde, que la diffusion des métabolites cérébraux était contrainte par une structure à grande échelle, que nous attribuons aux ramifications successives et à la longueur finie des filaments cellulaires (axones, dendrites, filaments astrocytaires...). Nous avons proposé une méthode pour modéliser la diffusion dans ce genre de structures, afin d'estimer la longueur et la complexité des fibres neuronales et astrocytaires à partir des mesures de diffusion *in vivo* (3). Un intérêt potentiel de cette méthode unique pourrait être de quantifier de manière non-invasive ces paramètres cellulaires, susceptibles de changer dans un contexte neuropathologique, mais ceci reste encore à évaluer.

L'objectif de ce stage est donc d'appliquer les méthodes développées au sein du laboratoire pour détecter les changements de morphologie cellulaire dans un contexte neuropathologique chez la souris. Le travail consistera à réaliser les expériences chez la souris *in vivo* en utilisant l'IRM 11.7 teslas de MIRCen, à analyser les spectres RMN afin de quantifier la diffusion des métabolites, puis à modéliser cette diffusion pour estimer la morphologie cellulaire. Ce stage s'inscrit dans le cadre d'un projet financé par le Conseil Européen de la Recherche (ERC).

Références :

1. Nicolay K, Braun KP, Graaf RA, Dijkhuizen RM, Kruiskamp MJ. Diffusion NMR spectroscopy. NMR in biomedicine 2001;14(2):94-111.
2. Ronen I, Valette J. Diffusion-weighted magnetic resonance spectroscopy. eMagRes 2015;4:733-750.
3. Palombo M, Ligneul C, Najac C, Le Douce J, Flament J, Escartin C, Hantraye P, Brouillet E, Bonvento G, Valette J. New paradigm to assess brain cell morphology by diffusion-weighted MR spectroscopy *in vivo*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2016;113(24):6671-6676.

Lien vers la page du groupe: <http://i2bm.cea.fr/drf/i2bm/Pages/MIRCen/Thematiques-de-recherche.aspx?Type=Chapitre&numero=2>

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (LIPhy, UMR5588)

Adresse : 140 rue de la Physique, Domaine Universitaire, 38000 Grenoble

Directeur du laboratoire : Jean-Louis Barrat

Équipe de recherche (si pertinent) : DYFCOM

Responsable de l'équipe : C. Misbah

Responsable de stage : C. Verdier

Adresse électronique : claud.verdier@univ-grenoble-alpes.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED Physique (ED n°47) ou I-MEP2 Mécanique (ED n° 510)

Profil recherché : Biophysique

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui financement envisagé : Bourse ED

Titre du stage : Transmigration des cellules cancéreuses

Résumé : La compréhension de la transmigration des cellules cancéreuses passe par !

- la capacité des cellules à adhérer à l'endothélium
- la déformabilité des cellules pour se faufiler entre les jonctions cellulaires
- la mécano-transduction

Pour étudier ce phénomène, nous caractérisons les forces d'adhésion par AFM, afin d'identifier les récepteurs et les ligands présents à la surface des cellules [1]. Les propriétés micro-rhéologiques sont aussi obtenues grâce à des tests d'indentation dynamiques [2]. Enfin, les cellules cancéreuses sont mises au contact de monocouches de cellules endothéliales cultivées sur des gels déformables. Les forces exercées par les cellules cancéreuses lors de la transmigration sont mesurées par 'Traction Force Microscopy' (TFM) grâce à une méthode originale développée dans l'équipe [3]. Le but est de déterminer les mécanismes utilisés par les cellules cancéreuses lors du passage au travers de la monocouche. La dynamique du cytosquelette ainsi que l'organisation des molécules adhésives au niveau des jonctions seront aussi suivies. Différentes lignées de cellules cancéreuses d'invasivité variable seront étudiées.

Références:

[1] V.M. Laurent, A. Duperray, V. Sundar Rajan, C. Verdier, Evidence of the role of ICAM-1 on cell invasiveness through AFM measurements of the interaction between tumor cells and endothelial cells, *PLOS One*, **9**(5), e98034 (2014)

[2] Y. Abidine, V.M. Laurent, R. Michel, A. Duperray, C. Verdier, Local mechanical properties of bladder cancer cells measured by AFM as a signature of metastatic potential, *Eur. Phys. J. Plus*, **130**, 202 (2015)

[3] V. Peschetola, V.M. Laurent, A. Duperray, R. Michel, D. Ambrosi, L. Preziosi, C. Verdier, Time-dependent traction force microscopy for cancer cells as a measure of invasiveness, *Cytoskeleton*, **70**, 201-214 (2013)

Collaboration : Alain Duperray (Institut pour l'Avancée des Biosciences – IAB)

Contexte : Projet ANR "Transmig" (2013-2017)

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Centre Interdisciplinaire de Nanoscience de Marseille (CINaM)

Adresse : CINaM, CNRS UMR7325 – Campus de Luminy, Case 913 – 13288 Marseille cedex 9

Directeur du laboratoire : Frédéric FAGES

Équipe de recherche (si pertinent) : Groupe « Physique et micro-nano Ingénierie pour le Vivant »
Département Science et Technologie des Nano-Objets

Responsables dans l'équipe : Anne CHARRIER, Emmanuèle HELFER, Kheya SENGUPTA, Annie VIALLAT

Responsable de stage : Annie VIALLAT, Emmanuèle HELFER

Adresse électronique : viallat@cinam.univ-mrs.fr, helfer@cinam.univ-mrs.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED352, Physique et Sciences de la Matière

Profil recherché : Physicien, avec notions de biologie ou forte volonté d'ouverture vers la biologie

Possibilité de poursuite en thèse : OUI - NON

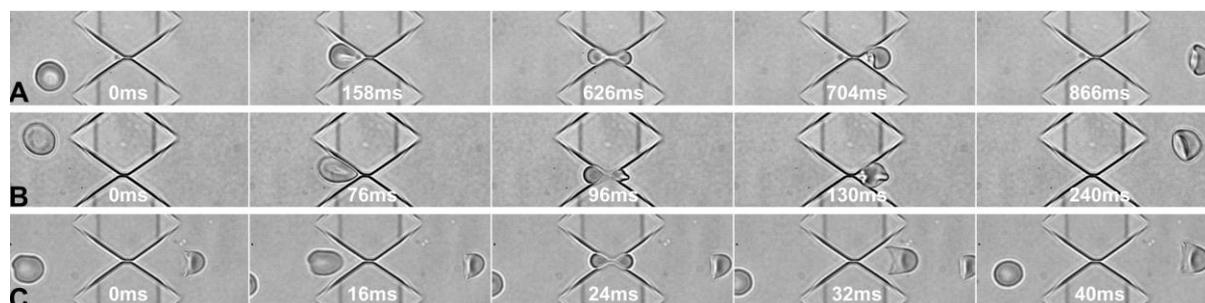
Si oui financement envisagé : Allocation de Recherche par l'ED 352

Titre du stage : Dynamics of red blood cells in biomimetic splenic slits in two genetic diseases

Résumé :

Two of the most important genetic diseases of red blood cells, namely sickle cell anemia - the most prevalent genetic disease in the world - and hereditary spherocytosis, are both characterized by an impaired red blood cell passage through the submicron slits in the spleen. The function of the spleen is to eliminate aged red blood cells and abnormal ones that cannot deform and pass fast enough through the slits.

Our group develops micro/nano-fabrication of microfluidic devices in which red blood cells are submitted to controlled flow and hydrodynamic stress (figure).



Red blood cells passing through a slit. Timelapses of two healthy (A-B) and one spherocyte (C) red blood cells passing through a slit of $0.8\mu\text{m}$ width, $2\mu\text{m}$ length, and $5\mu\text{m}$ height.

The intern will study the individual dynamics of both healthy and pathological RBCs flowing in slits (submicron width) that mimic the interendothelial slits of splenic sinusoids. He/she will study the response of flowing red blood cells in terms of deformation, microstructural changes and active molecular release, as well as their kinetics and possible entrapment in the slits. He/she will derive the altered mechanical properties of sick red blood cells and

relate them to the genetic diseases. The retention time in the slit will be correlated to the time required for phagocyte to come and destroy a red blood cell.

The project on study of RBC genetic diseases is led by 3 scientists in CINaM: Dr. A. Viallat (RBC dynamics under flow, cell mechanics) Dr. A. Charrier (chemical and topographic nano-patterning), and Dr. E. Helfer (membrane biophysics, protein assembly), in collaboration with Pr. C. Badens (Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital d'enfants de La Timone, Marseille). We collaborate with Dr. Z. Peng, assistant Professor in University of NotreDame, Indiana (USA) who has ten years' experience on computational modeling of red blood cells. He has developed multiscale models of red blood cells and is now modeling the passage of red blood cells in the spleen.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : *Laboratoire d'Optique et Biosciences*

Adresse : *Ecole Polytechnique, 91120 Palaiseau*

Directeur du laboratoire : *François Hache*

Équipe de recherche (si pertinent) : *Dynamique interne des protéines*

Responsable de l'équipe : *Marten VOS*

Responsable de stage : *Marten VOS*

Adresse électronique : *marten.vos@polytechnique.edu*

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : *INTERFACES*

Profil recherché : *formation (bio)physique ou physico-chimie avec intérêt pour biophysique moléculaire*

Possibilité de poursuite en thèse : *OUI -*

Si oui financement envisagé : *bourse ED*

Titre du stage : *Carbon monoxide dynamics in a CO-sensor protein*

Résumé :

Carbon monoxide (CO) is not only a toxic gas, but has in recent years also been recognized as a physiological signaling molecule in eukaryotic and prokaryotic organisms. A small number of specialized proteins has been identified that act as CO sensors. In these proteins binding of CO to a heme cofactor leads to changes in the activity of an associated enzymatic domain. This project focuses on a bacterial CO sensor protein, RcoM2. The RcoM2 heme domain was recently found to have an extremely high affinity for CO, and, at least *in vitro*, act as a CO trap.¹ To investigate the molecular origin of this highly unusual property that also has potential technological applications, the CO dynamics inside the full protein will be studied. The heme-CO bond can be photodissociated, and, making use of the associated heme color change, this property will be used to follow the dynamics of CO-heme bond reformation using ultrafast optical spectroscopy. Combining this approach with site directed mutagenesis to alter the protein composition, as well as the effect of external effector molecules, should give insight in the way CO sensing occurs *in vivo*. Tutoring for the spectroscopic aspects as well as for the biochemical aspects is provided. The associated thesis project will also aim at exploiting the properties of this natural protein to develop a CO sensor protein that also functions under aerobic conditions, a tool that is missing in present research on the physiological and therapeutic effects of CO.

1. Bouzhir-Sima, L., Motterlini, R., Gross, J., Vos M.H. & Liebl U. (2016) *Unusual Dynamics of Ligand Binding to the Heme Domain of the Bacterial CO Sensor Protein RcoM-2*, **J. Phys. Chem. B**, in press

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

| | |
|--------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Laboratoire : | Laboratoire Interdisciplinaire de Physique |
| Adresse : | 140 rue de la Physique – 38402 St. Martin d'Hères (Grenoble) |
| Directeur du laboratoire : | Jean-Louis Barrat |
| Équipe de recherche (si pertinent) : | Materiaux, Optique et Techniques Instrumentales pour le Vivant |
| Responsable de l'équipe : | Antoine Delon |
| Responsable de stage : | Irène Wang |
| Adresse électronique : | Irene.Wang@univ-Grenoble-alpes.fr |
| N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : | N°47 – Ecole Doctorale de Physique |
| Profil recherché : | Physiciens avec connaissances en optique |
| Possibilité de poursuite en thèse : | OUI |
| Si oui financement envisagé : | Bourse du ministère |
| Titre du stage : | Quantitative optogenetics with total internal reflection fluorescence fluctuations |

Optogenetics are recently developed tools, based on photosensitive proteins that enable the use of light to activate or inhibit specific proteins and control intracellular processes. One key benefit of optogenetics is the capability to induce signalling perturbations that are localized in space and time, while classical genetic and pharmacologic approaches can only create permanent and global perturbations. Optogenetics is a particularly interesting tool for studying the spatio-temporal processes involved in cell signalling which governs cell behaviour during e.g. migration or division. Therefore, it is important to quantify the molecular activity following light irradiation and understand the physical processes that determine the spatial and temporal resolution of the induced effect.

In this project, the optogenetic system Cry2/CIBN will be studied in live cells. Upon blue light absorption, Cry2 associates with CIBN which is anchored at the cell membrane (see figure). By fusing Cry2 with signalling proteins, it would be possible to activate specific cell signalling pathways. Here, we focus on quantifying the recruitment of Cry2 molecules using image correlation spectroscopy (ICS), a family of methods based on the analysis of pixels' intensity fluctuations in an image series. These fluctuations arise from changes in the occupation number of fluorophores in the focal volume. ICS can provide quantitative maps of protein density and diffusion constant of fluorescent molecules, by computing correlation functions in subregions of the image. In order to remove the fluorescence signal from out-of-focus planes in the cell, a total internal reflection (TIRF) configuration will be used: as the incident beam is translated to the edge of the objective pupil, the incident angle increases until the critical value that forbids propagation into the sample. Since the evanescent wave only extends a few hundreds of nanometers inside the sample, only fluorescent molecules attached to the membrane would be visible.

The proposed work would include first building the optical setup around an existing microscope. This setup will consist of 488 nm- and 561 nm-emitting lasers, a high NA objective and a fast camera. Then, the concentration, mobility and interactions of Cry2, CIBN and the photo-generated dimer will be measured as a function of irradiation intensity and duration. Based on these results, it would be possible to optimize the illumination conditions to improve the spatial resolution of light-induced effects.