

Propositions de stages et thèses 2013

M2 Physique des Systèmes Biologiques

parcours Interface Physique Biologie et
parcours Matière et Biologie

« PROPOSITION DE STAGE ET DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire de Mécanique des Solides – Opération Mécanique et Systèmes Vivants

Adresse : Ecole Polytechnique, 91128 Palaiseau

Responsable(s) de Stage : Jean-Marc ALLAIN

Téléphone : 01 69 33 58 12 Email : allain@lms.polytechnique.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : EDX (Ecole Doctorale de l'X)

Titre du stage : Perception mécanique chez les plantes

Résumé :

Les plantes poussent dans un environnement complexe et changeant, auquel elles doivent s'adapter continuellement, sans se déplacer. En particulier, elles doivent prendre en compte les sollicitations mécaniques – comme la gravité ou le vent – pour arriver à maintenir leur posture verticale, sans plier prématurément. Pour cela, les plantes bénéficient de différents systèmes de perceptions, suivant la sollicitation. Dans le cas particulier du vent ou des contacts, la perception (dite « thigmomorphogénèse ») reste encore mal comprise tant au niveau cellulaire que de la répartition spatiale ou de la dynamique de la réponse. Nous partons d'une hypothèse de perception des déformations par les cellules, en accord avec des résultats de la littérature. Deux questions pourront faire l'objet du stage, suivant les préférences de l'étudiant : la perception à l'échelle cellulaire ou la réponse à l'échelle de la plante entière.

A l'échelle de la cellule, nous faisons l'hypothèse d'une perception via des canaux ioniques mécanosensibles, c'est-à-dire dont l'ouverture est contrôlée par la tension de la membrane cellulaire : le mouvement d'ensemble de la plante modifie la taille de la boîte de cellulose qui entoure la cellule, qui entraîne l'étirement de la cellule et donc de sa paroi. Plus particulièrement, nous nous intéressons à la dynamique de ces canaux, qui ont principalement été étudiés de manière statique. Pour cela, des expériences sont réalisées à l'Institut des Sciences du Végétal à Gif-sur-Yvette. L'objet du stage sera de développer un modèle quantitatif de la réponse fréquentielle des canaux ioniques. Pour cela, nous modifierons les modèles de cinétique chimique classiques pour tenir compte d'une tension oscillante.

A l'échelle de la plante entière, nous disposons pour le moment d'un modèle simple, qui permet de déterminer l'évolution du profil de la plante lors de sollicitation, en suivant les rayons et la hauteur de la plante. L'objet du stage sera alors de rendre ce modèle plus quantitatif, en s'appuyant sur de nombreuses données expérimentales sur des jeunes peupliers obtenues à l'UMR PIAF de l'INRA de Clermont-Ferrand. En particulier, nous chercherons à prendre en compte des aspects locaux de la croissance : transmission verticale de l'information et ovalisation de la plante lors de sollicitations répétées.

Ce stage pourra être prolongé en thèse.

Title

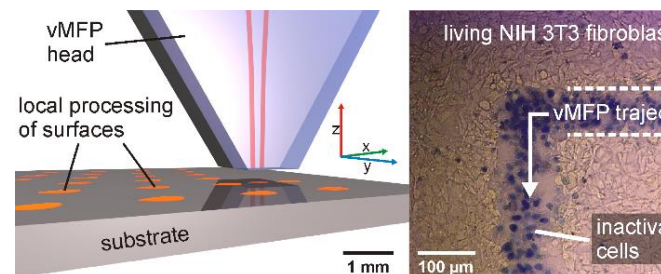
Microfluidic probe for localized cell staining and analysis.

Description

The Microfluidic Probe (MFP) [1] is a non-contact microfluidic technology, which localizes nanoliter volumes of liquids on surfaces to perform a broad range of (bio)chemical processes. This “open-space” microfluidic device is particularly suited for working in a wet environment in non-contact mode, and it has been shown that the device can process biological samples (such as cells layer and tissue sections) with micrometer precision [2].

Using the MFP technology, we want to investigate further the possibility of rapid staining and analysis of biological samples for fundamental biology studies and diagnosis applications. We envision the possibility of reducing sample consumption, while allowing for tremendous improvements in rapid multiplex diagnosis using molecular biology methods.

This project will be performed at IBM Research – Zurich, where you will be exposed to an active, vibrant and stimulating research environment.



Tasks

The work in the Experimental Biosciences group will be to adapt molecular biology and biochemistry with microfluidic transfer existing cell processing methods from the lab bench to the MFP. The student will:

- Investigate molecular biology methods on cell models and validate them.
- Adapt those methods for continuous flow and wet environment.
- Use the microfluidic probe to validate those methods *in-situ* on cell models.
- Investigate further the potential benefits of localized molecular biology on tissue samples.

Requirements

The student must have a strong interest in cell biology and/or medical diagnosis. He/she must have a background in at least one of the following disciplines: biomedical engineering / cell biology / biophysics / molecular biology. In addition, the student must be motivated, self-driven and keen to work on experiments. The student must be able to fluently converse in English.

Time frame & Contact

Early 2014. Starting date is flexible, and the project duration is six months. Application should be addressed to Julien Autebert: jau@zurich.ibm.com

[1] Kaigala, G. V., Lovchik, R. D. and Delamarche, E. *Angew. Chem.*, 2012

[2] Kaigala, G. V., Lovchik, R. D., Drechsler, U. and Delamarche, E. *Langmuir*, 2011

This work falls within the framework of an EU-ERC project BioProbe. More information: <http://www.bioprobe.eu>

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »



Laboratoire : IMNC, Campus universitaire d'Orsay, bat 440, 91405 Orsay Cedex

Adresse : Campus universitaire d'Orsay, bâtiment 440

Responsable de stage : Mathilde Badoual

Téléphone : 0169157201

Email : badoual@imnc.in2p3.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : Physique en Ile de France (ED518)

Titre du stage : Modélisation du métabolisme de cellules tumorales

Résumé :

Les cellules tumorales ont un métabolisme altéré : même en présence d'oxygène, au lieu d'oxyder le glucose par phosphorylation oxydative, elles montrent une préférence pour la glycolyse. Ce phénomène est appelé « effet Warburg » et constitue un paradoxe apparent puisque la glycolyse est moins efficace en ce qui concerne la production d'ATP.

Plus précisément, il a été mis en évidence l'existence de deux populations de cellules, qui développent une coopération métabolique : les cellules hypoxiques ont un métabolisme glycolytique et produisent du lactate et les cellules non hypoxiques, consomment le lactate produit en excès et évitent au milieu l'acidification excessive.

Un modèle mathématique décrivant l'évolution temporelle des concentrations de cellules de chaque type, de glucose et de lactate a déjà été développé [Mendoza-Juez, 2011], mais ce modèle ne fait intervenir aucune dépendance spatiale.

Or, les gliomes diffus se caractérisent par une migration des cellules dans les tissus environnants, provoquant des récurrences systématiques après traitement.

Nous nous proposons donc de compléter ce modèle afin d'étudier les profils spatio-temporels de concentrations de cellules, de glucose et de lactate.

les traitements actuels contre le cancer ciblent de façon générale les cellules en prolifération. Ce manque de spécificité conduit à de nombreux effets secondaires indésirables.

L'étude du métabolisme des cellules tumorales s'inscrit dans le cadre de la recherche de nouvelles thérapies plus spécifiques des tumeurs.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Institut Fresnel, Marseille
Adresse : Domaine universitaire saint Jérôme, 13013 Marseille
Responsable(s) de Stage : Guillaume Baffou
Téléphone : 04 91 28 84 95 **Email :** baffou@fresnel.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : ED352

Titre du stage : Etude de chauffage de cellules uniques à l'aide de nanoparticules d'or

Résumé :

Le sujet du stage consiste à étudier des phénomènes thermo-induits dans des cellules en culture par chauffage optique de nanoparticules d'or.

Contexte scientifique:

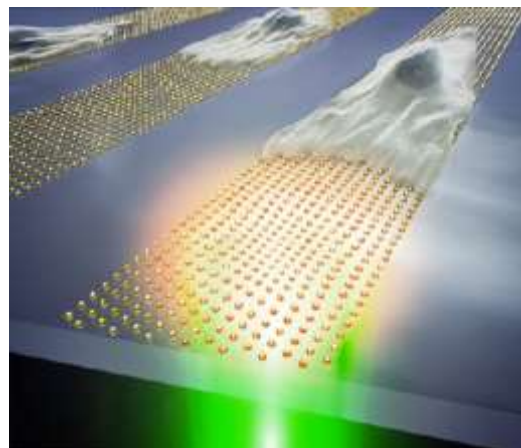
L'étude des phénomènes thermiques en biologie s'appelle la bioénergétique. Les recherches dans ce domaine consistent souvent à chauffer tout un échantillon, voire toute l'enceinte d'un microscope, pour étudier l'influence de la température sur le métabolisme de cellules.

L'approche que nous proposons est différente et offre de nouvelles perspectives. Notamment, 1) en chauffant localement une cellule sur quelques microns carrés, on peut choisir quel compartiment cellulaire doit être chauffé. 2) Il devient possible d'appliquer des variations de température en quelques microsecondes. 3) On peut appliquer des augmentations de température différentes d'une cellule à l'autre sur un même échantillon.

Toutes ces approches ne sont pas envisageables par les techniques classiques.

Approche expérimentale:

Pour chauffer les cellules, nous utilisons comme substrat pour les cellules un tapis de nanoparticules d'or déposées sur du verre. Sous illumination laser au travers d'un microscope optique, les nanoparticules absorbent la lumière incidente et se comportent alors comme des nanosources de chaleur idéales, juste sous les cellules. La compétence particulière et unique du groupe Mosaic est la mise au point récente d'une technique optique d'imagerie thermique permettant de cartographier la température à l'échelle submicrométrique. Cette technique optique de mesure thermique unique au monde est basée sur l'utilisation d'une caméra de



phase optique. Grâce à cette technique, la température pourra être suivie et ajustée lors du chauffage des nanoparticules d'or par illumination laser.

En parallèle à ces mesures thermiques, il s'agira de suivre au cours du temps la réponse de la cellule à des variations de température localisées. Le processus biologique concerné, et la méthode de suivi (imagerie de fluorescence ou autre) seront définis avec l'étudiant(e) au cours du stage.

L'institut Fresnel:

L'institut Fresnel est avant tout un laboratoire d'optique, et le groupe Mosaic est plus particulièrement orienté vers les applications de l'optique en biologie. De nombreuses techniques de microscopies optiques sont disponibles (fluorescence, Raman, phase). Nous possédons également au sein du groupe une salle de chimie, une salle de culture cellulaire, et un microscope électronique. Pour en savoir plus: www.fresnel.fr/mosaic.

Sujets abordés:

Durant le stage, l'étudiant(e) enrichira ses compétences principalement en optique expérimentale et microscopie optique. Si il (elle) le souhaite, l'étudiant(e) pourra également participer à la synthèse des nanoparticules d'or par voie chimique. L'étudiant(e) s'initiera également au domaine de la nanoplasmonique, la discipline de recherche à la base de ce projet, et en plein essor actuellement.

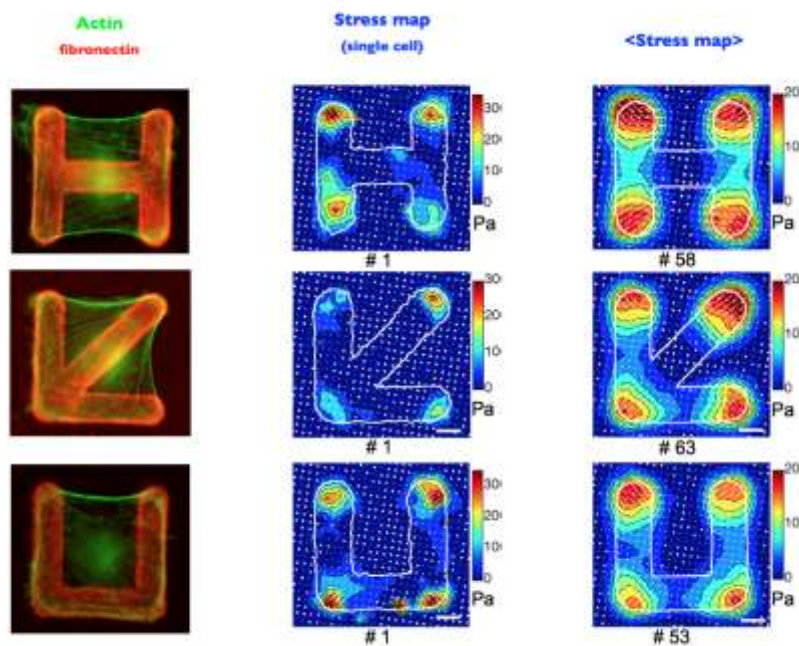
Pour plus d'infos sur la thématique: <http://guillaume.baffou.com>

Designing microstructured environments to modulate cell contractility activity

Laboratoire : LIPhy Laboratoire Interdisciplinaire de Physique UMR 5588
Adresse : 140 rue de la physique Grenoble
Responsable(s) de Stage : Martial BALLAND
Téléphone : 06 11 34 85 34 **Email** Martial.balland@ujf-grenoble.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : Ecole Doctorale de Physique de Grenoble

Living cells sense the physical properties of their microenvironment through forces that they can generate thanks to their contractile machinery named the acto/myosin cytoskeleton. This ability of cells to sense the physical properties of their surrounding can have drastic effects on their physiology and ultimately on fundamental biological processes such as migration, division (1) or differentiation. In this way it has been discovered for example that cells can react to the rigidity or the topography of their microenvironment. In our lab we have developed different tools to both measure the forces that cell exert on their environment but also tools to manipulate cells internal architecture (2). The question we want to ask for this internship is: what is the influence of the geometry of the microenvironment on the overall contractility of single cells and thus can we bias the way cell respond to their mechanical environment by changing their adhesive geometry.



The applicant will work at the interface between microfabrication techniques, optical instrumentation and cell biology. The ideal candidate will show initiative, enthusiasm and ability to work independently. Flexibility and good communication skills are also essential.

martial.balland@ujf-grenoble.fr (04 76 63 58 16) <http://www.martial-balland.com/>

(1) ESCRT-III Assembly and Cytokinetic Abscission Are Induced by Tension Release in the Intercellular Bridge Lafaurie-Janvore J, Maiuri P, Wang I, Pinot M, Manneville JB, Betz T, Balland M, Piel M Science 29 March 2013: Vol. 339 no. 6127 pp. 1625-1629

(2) A new micropatterning method of soft substrates reveals that different tumorigenic signals can promote or reduce cell contraction levels.

Tseng Q, Wang I, Duchemin-Pelletier E, Azioune A, Carpi N, Gao J, Filhol O, Piel M, Théry M, Balland M. Lab Chip. 2011 Jul 7;11(13):2231-40. Epub 2011 Apr 26.

Cell dipole feel their environment

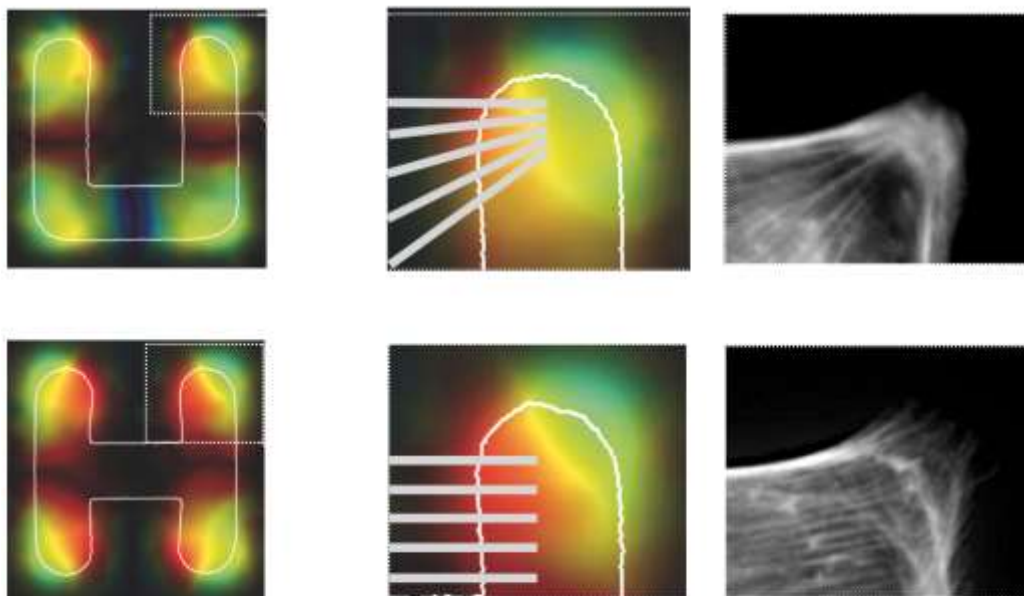
Laboratoire : LIPhy Laboratoire Interdisciplinaire de Physique UMR 5588
Adresse : 140 rue de la physique Grenoble
Responsable(s) de Stage : Martial BALLAND
Téléphone : 06 11 34 85 24 **Email :** Martial.balland@ujf-grenoble.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : Ecole Doctorale de Physique de Grenoble

Cells sense and respond to their mechanical environment by exerting forces on their surroundings (1). The way forces are modulated by ECM properties plays a key role in tissue homeostasis. Recently, we found that ECM adhesive geometry can significantly impact the architecture of actin cytoskeleton and their related traction forces (2). Strikingly, we also found that local adhesive changes can trigger orientational ordering of stress fibers throughout the cell suggesting that living cells can behave as mechanical dipole. The question we want to ask for this internship is: can we define the architectural rules that define the orientation of those mechanical dipoles by playing on the geometry of cells adhesive environment. We'll then try to apply these rules on larger scales so as to direct cell migration in a controlled way.

The applicant will work at the interface between microfabrication techniques, optical instrumentation, mechanics and cell biology.

Contact: martial.balland@ujf-grenoble.fr (04 76 63 58 16) <http://www.martial-balland.com/>
The ideal candidate will show initiative, enthusiasm and ability to work independently. Flexibility and good communication skills are also essential.



A slight change in ECM geometry trigger a global acto/myosin reorganization

References:

- (1) Integrins as mechanochemical transducers. Ingber D. Curr Opin Cell Biol. 1991
- (2) **A new micropatterning method of soft substrates reveals that different tumorigenic signals can promote or reduce cell contraction levels.** Tseng Q, Wang I, Duchemin-Pelletier E, Azioune A, Carpi N, Gao J, Filhol O, Piel M, Théry M, Balland M. Lab Chip. 2011 Jul 7;11(13):2231-40. Epub 2011 Apr 26.

« PROPOSITION DE STAGE ET DE THESE »

Laboratoire : PhysicoChimie Curie – Institut Curie
Adresse : 11 Rue P. et M. Curie, 75005 Paris
Responsable(s) de Stage : Patricia Bassereau
Téléphone : 01 56 24 67 84 **Email :** patricia.bassereau@curie.fr

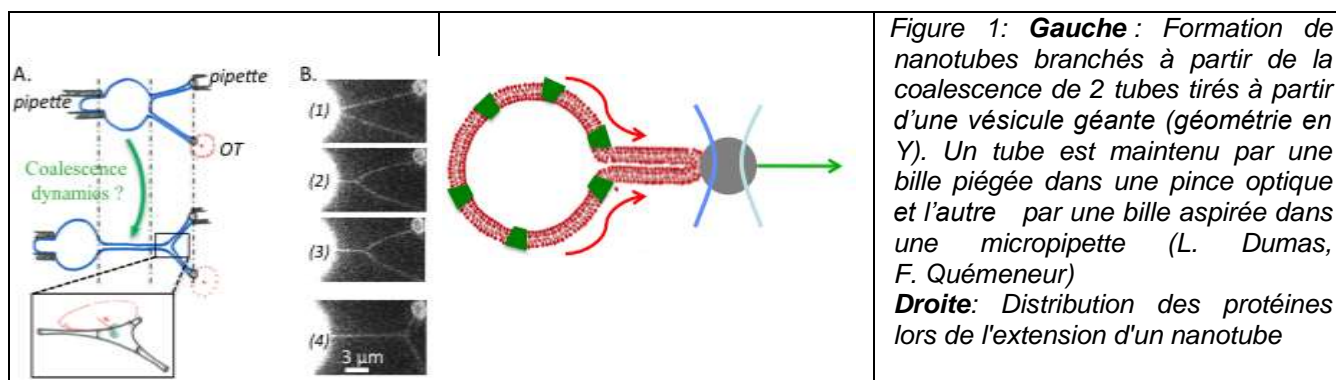
N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées pour la thèse:

ED "Matière Condensée et Interfaces" – ED518
ED Interdisciplinaire Frontières du Vivant" - ED474

Titre du stage+thèse : Rôle de la géométrie membranaire dans la diffusion et l'advection de protéines

Résumé :

La localisation précise des protéines sur les membranes de structures tels que les synapses ou les axones dans les neurones, ou sur les cils primaires des cellules par exemple nécessite de pouvoir contrôler des gradients de concentration importants entre ces structures et le reste des cellules. Ceci implique que la diffusion des protéines entre les différentes parties de la cellule est limitée, car elle conduirait à une homogénéisation de leur concentration. Pour ceci, les biologistes invoquent l'existence de *barrières de diffusion* qui bloquent cette homogénéisation (1). Elles peuvent être dues à l'interaction des protéines avec le cytosquelette ou avec un "scaffold" de protéines. Les synapses, les cils ou les neurones comportent un cou avec une courbure gaussienne négative. Notre équipe a déjà montré que la diffusion de protéines dans des membranes tubulaires est ralentie lorsque le diamètre des tubes diminue (2). Nous souhaitons maintenant *étudier l'influence de la forme de ce cou sur la diffusion de protéines membranaires, ainsi que sur leur advection*. Pour cela, nous formerons des nanotubes de membrane branchés (géométrie en Y) (3)(Figure 1) et étudierons l'effet de cette géométrie sur la diffusion de différentes protéines membranaires présentant ou non une affinité pour la courbure. Pour ces expériences, nous utiliserons des pinces optiques montées sur un microscope confocal et l'aspiration par micropipette. La diffusion sera mesurée à partir du suivi de quantum dots unique (SPT) attachés à ces protéines. Ensuite, nous étudierons comment les protéines transmembranaires sont advectées lors de l'extension d'un tube. En effet, la forte courbure du cou du tube induit de forts gradients de vitesse au niveau du cou du tube qui peuvent fortement perturber le transfert des protéines dans le tube. Nous étudierons cette dynamique par des mesures de fluorescence en fonction du diamètre du tube, de la vitesse d'extrusion du tube et de la concentration en protéines. Ces mesures pourront ensuite être comparées à des mesures similaires de formation de tubes à partir de cellules. A terme, ces mesures physiques permettront de mieux comprendre les implications de la géométrie locale des membranes sur la dynamique des protéines.



1. Caudron F & Barral Y (2009) Septins and the Lateral Compartmentalization of Eukaryotic Membranes. *Dev Cell* 16:493-506.
2. Domanov Y, et al. (2011) Mobility in geometrically confined membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:12605-12610.
3. Cuvelier D, Derényi I, Bassereau P, & Nassoy P (2005) Coalescence of membrane tethers: experiments, analysis and applications. *Biophys J* 88:2714-2726.

« PROPOSITION DE STAGE ET DE THESE »

Laboratoire : PhysicoChimie Curie – Institut Curie
Adresse : 11 Rue P. et M. Curie, 75005 Paris
Responsable(s) de Stage : Patricia Bassereau
Téléphone : 01 56 24 67 84 **Email :** patricia.bassereau@curie.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées pour la thèse:

ED "Matière Condensée et Interfaces" – ED518
ED Interdisciplinaire "Frontières du Vivant" - ED474

Titre du stage+thèse : Diffusion de protéines dans des membranes – effets hors-équilibre.

Résumé :

Les développements techniques récents pour le suivi de molécule ou particule unique ont permis de mettre à jour des mécanismes nouveaux liés aux mouvements moléculaires dans les membranes biologiques (1). La mise au point de nouvelles méthodes pour la détection et l'analyse des trajectoires des objets membranaires est actuellement un domaine très actif. L'enjeu est de pouvoir relier le coefficient de diffusion déduit de ces mesures à la taille de l'objet diffusant et à son environnement local. Les travaux récents de l'équipe de P. Bassereau en collaboration avec D. Lacoste (ESPCI) et P. Atzberger (UC Santa Barbara, USA) ont montré que le modèle de diffusion classique de Saffman et Delbrück (2) ne permet pas de d'interpréter les résultats obtenus avec des protéines non cylindriques, capables de déformer les membranes et diffusant dans une membrane modèle; il faut prendre en compte les mécanismes de dissipation dans la membrane et le fluide environnant ainsi que la déformation due à la protéine (3). Ces résultats montrent que beaucoup reste à faire sur la théorie et les expériences pour comprendre la diffusion des protéines dans des systèmes simplifiés avant de pouvoir interpréter les mesures dynamiques sur les cellules. L'objectif du projet est d'explorer de nouveaux aspects physiques de la diffusion des protéines dans les membranes en utilisant des systèmes modèles, en collaboration avec des théoriciens (D. Lacoste (ESPCI) et A. Callan-Jones (MSC, Paris VII)). La première partie du projet consistera à étudier l'effet de l'encombrement des protéines sur leur diffusion et sur celles des lipides qui les entourent. Ces expériences seront réalisées sur des liposomes géants contenant des protéines membranaires reconstituées auxquelles on attachera des quantum dots. Leurs déplacements seront détectés par suivi de particules uniques (Fig. 1). Des mesures analogues pourront être réalisées par FCS (Fluorescence Correlation Microscopy) et ensuite comparées à des mesures de diffusion collective réalisées par FRAP. On s'intéressera ensuite aux conséquences d'effets hors-équilibre sur la diffusion de ces protéines. Ceux-ci peuvent être dus à l'activation des protéines (par exemple, par la liaison d'un ligand, ou l'hydrolyse de l'ATP dans le cas de canaux ou de transporteurs), ou à des effets hors-équilibre sur la membrane (par exemple, des changements rapides de tension).

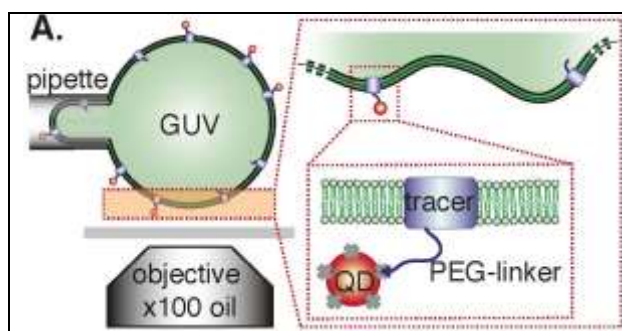


Figure 1: Montage expérimental permettant de mesurer la diffusion de protéines reconstituées dans une vésicule géante (GUV) dont la tension est contrôlée par l'aspiration par micropipette. La trajectoire des protéines est détectée par le suivi de quantum dots (QD) attachés aux protéines.

Références

1. M. Dahan *et al.*, *Science* **302**, 442 (2003).
2. P. G. Saffman, M. Delbrück, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **72**, 3111 (1975).
3. F. Quemeneur *et al.*, (submitted).

« PROPOSITION DE STAGE ET DE THESE »

Laboratoire : PhysicoChimie Curie – Institut Curie
Adresse : 11 Rue P. et M. Curie, 75005 Paris
Responsable(s) de Stage : Patricia Bassereau
Téléphone : 01 56 24 67 84 **Email :** patricia.bassereau@curie.fr

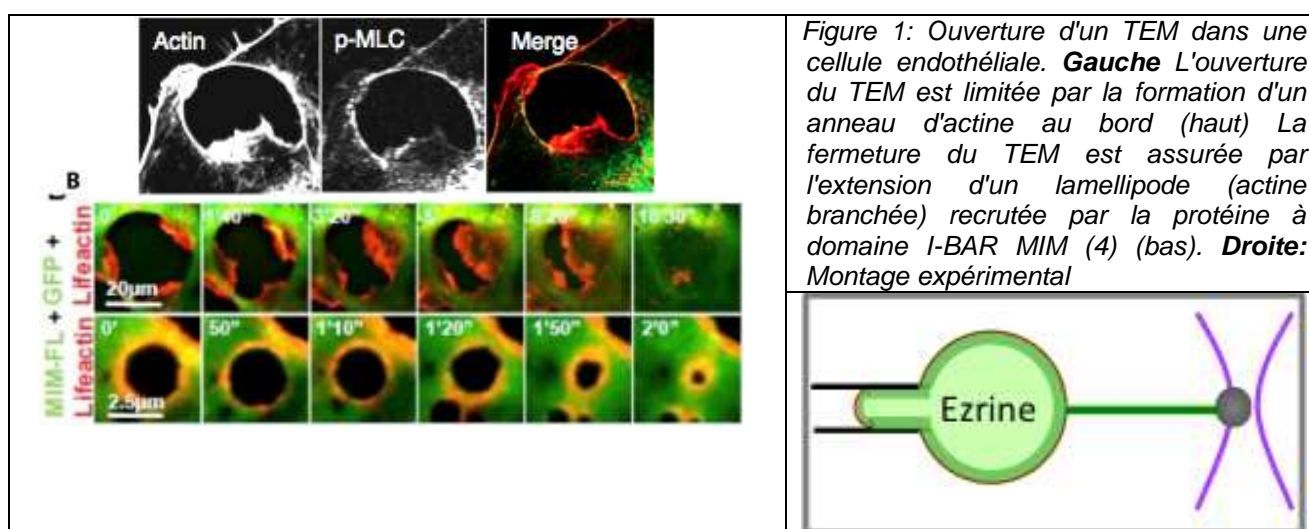
N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées pour la thèse:

ED "Matière Condensée et Interfaces" – ED518
ED Interdisciplinaire "Frontières du Vivant" - ED474

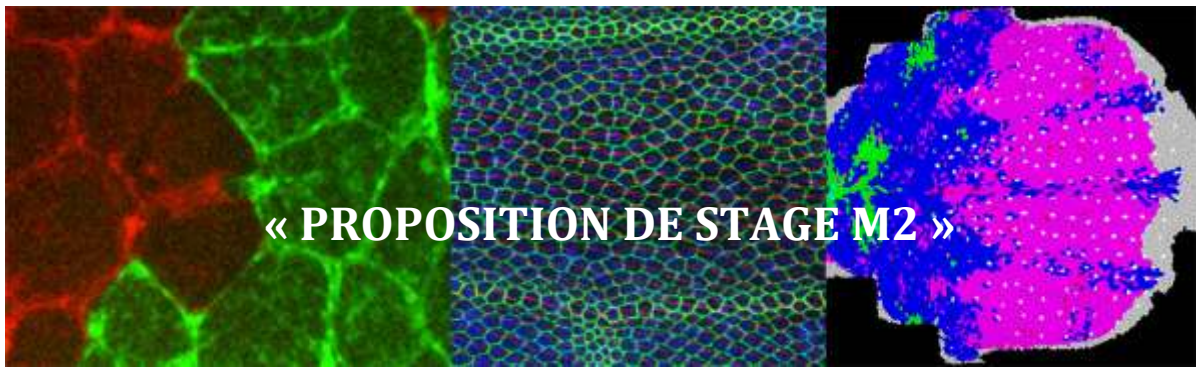
Titre du stage+thèse : Mécanisme d'auto-cicatrisation cellulaire

Certaines bactéries comme le Staphylocoque doré sont capables de produire des toxines qui perturbent la contractibilité des cellules des parois des vaisseaux sanguins, ce qui conduit à la formation spontanée de tunnels à travers ces cellules (appelés TEM Transendothelial Macroapertures) et le passage des bactéries dans les tissus (1). Les globules blancs produisent des tunnels équivalents en indentant les cellules avec des structures rigides (podosomes)(2). Il est crucial de refermer ces ouvertures pour maintenir une barrière épithéliale. Les cellules possèdent des mécanismes d'auto-cicatrisation que nous souhaitons étudier. Ils sont basés sur le recrutement de protéines sur la membrane très courbée des TEM. Ces protéines recrutent différentes structures d'actine: un anneau d'actine qui encercle le TEM et semble limiter son extension et une structure constituée d'actine branchée semblable à un lamellipode qui s'étend vers le centre du TEM et le referme(3, 4). Le pseudo-lamellipode est recruté par des protéines à domaines I-BAR. Nos études *in vitro* montrent que ces protéines s'accumulent préférentiellement sur les membranes courbées et donc que la courbure membranaire peut agir comme un signal. L'anneau d'actine est recruté par des protéines telles que l'eitrine. L'affinité de cette protéine pour les membranes courbées n'a pas encore été démontrée. C'est ce que nous proposons donc d'étudier *in vitro*. Pour cela, on réalisera des expériences similaires à celles effectuées pour les protéines I-BAR: l'eitrine sera encapsulée dans un liposome géant et on formera un nanotube de courbure contrôlée avec une pince optique. On mesurera par microscopie confocale l'enrichissement de la protéine dans le nanotube, et éventuellement l'effet mécanique de la protéine sur la membrane grâce à la pince optique. Dans un deuxième temps, on incorporera des filaments d'actine et des myosines dans la vésicule pour reconstituer un anneau.

Cette étude est réalisée en collaboration avec Emmanuel Lemichez (Nice) pour la partie biologique.



1. L. Boyer *et al.*, *J. Cell Biol.* **173**, 809 (2006).
2. C. V. Carman *et al.*, *Immunity* **26**, 784 (2007).
3. E. Lemichez, D. Gonzalez-Rodriguez, P. Bassereau, F. Brochard, *Biol. Cell* **105**, 109 (2013).
4. M. P. Maddugoda *et al.*, *Cell Host & Microbe* **10**, 464 (2011).



Laboratoire : équipe "Polarité, division et morphogénèse"

Biologie du Développement, Institut Curie

Adresse : 26, rue d'Ulm, 75248 Paris Cedex 05

Responsable(s) d'équipe: Yohanns Bellaïche

Tél : 01 56 24 63 87 **email :** yohanns.bellaiche@curie.fr

Titre du stage : Dynamique des cellules au sein d'un tissu en développement

Résumé :

Comment une larve de mouche se métamorphose-t-elle en un insecte adulte? La drosophile est un excellent système d'étude pour la biologie du développement. En effet, c'est un modèle de base pour la génétique, pour lequel on dispose de nombreux mutants. En outre, on peut filmer le dos de l'animal vivant, et y suivre en détail chacune des cellules du tissu.

On observe que les cellules opèrent des changements de taille, de forme, de position et de voisins. Par ailleurs, les cellules se divisent, et certaines meurent, donc même leur nombre change. Ces divers changements déterminent le changement de forme du tissu, et donc sa forme finale à l'âge adulte.

Un tissu est ainsi un **matériau cellulaire actif**. Comprendre son comportement implique deux aspects complémentaires :

- D'une part, le **comportement individuel** d'une cellule: comment sa dynamique est-elle régulée à la fois par son adhésion, sa tension, et par les forces qu'elle subit ?
- D'autre part, le **comportement collectif**: comment les changements qui concernent les cellules individuelles s'additionnent-ils pour déterminer la taille, la forme et l'organisation du tissu adulte ?

Pour répondre à ces deux questions, nous développons plusieurs méthodes, à des **échelles de taille variées**: la molécule, la cellule, le tissu. Actuellement, nous mesurons et décrivons la dynamique des cellules, ainsi que les forces au sein du tissu. Ensuite, nous souhaitons les modifier par des mutations, ce qui permettra d'analyser l'effet de différents gènes. Les données ainsi obtenues devront être assemblées et corrélées: pour cela, nous souhaitons identifier des modes de représentation originaux. Enfin, nous souhaitons aboutir à un modèle et des simulations numériques permettant de relier le niveau de la cellule et celui du tissu.

L'étudiant/e aura à s'intégrer dans une collaboration interdisciplinaire incluant de la **biologie du développement**, de la **mécanique des solides et des fluides**, et de l'**analyse des données** par informatique.



ECOLE NORMALE SUPERIEURE
Laboratoire de Physique Statistique
associé au CNRS et aux Universités Paris VI et VII
24, rue Lhomond, Paris 75005

THESIS PROPOSAL

Controlling and studying physiological processes at the single cell level.

Thesis advisor: *D.Bensimon (david@lps.ens.fr)*

Location: *ENS, Dept. of Physics, Chemistry and Biology*

Living organisms are made of cells that are capable of responding to external signals by modifying their internal state (gene expression or protein phosphorylation patterns) and subsequently their external environment by the release of signaling molecules. In multicellular organisms in particular, cellular differentiation and signaling is essential for the development of the organism. While many of the key actors of these processes are known much less is known of the quantitative rules that govern their interaction with one another and with other cellular players.

We have developed a means to optically control the expression and activity of proteins at the single cell level in a live organism. A small soluble agent (caged-cyclofen) can be uncaged locally with two-photon excitation. It can then release proteins fused to its binding domain from complexes with cytoplasmic chaperones. We have shown that many proteins (eg. Cre-recombinase, caspase) can thus be activated at the single cell level in a zebrafish embryo.

In parallel we have developed a way to control the activity of retinoic acid (RA) via its isomerisation (RA, an important morphogen is implicated in hindbrain and antero-posterior axis development, i.e. somitogenesis). We would like to apply these optogenetics tools to study morphogenesis in zebrafish. Specifically we propose to activate RA and its partner morphogen (Fgf8) at specific times and locations to perturb and investigate the morphogenetic network presumed to pattern the hindbrain and the antero-posterior axis (see Dequéant&Pourquié, Nat.Rev.Gen.9, 380(2008)). Similarly, in collaboration with Prof. S.Schulte-Merker, we would like to control the concentration of Wnt and RA in order to study the formation of the vertebral column in zebrafish (which seems to be decorrelated from somitogenesis). To investigate the resulting perturbation, observations in transgenic animals expressing labelled proteins and in-situ hybridization to known downstream genes will be performed and compared with the native pattern. Numerical simulations of the presumed network will be used to compare the models with the observations.

In parallel with these investigations, we are also developing new approaches to study developmental responses in real time. Specifically we are developing fluorogen activating or catalyzing peptides to observe the fluorescence generated from a substrate either by its direct binding to a peptide or by its subsequent transformation into a fluorophore. These peptides fused to a target protein (eg. actin or microtubule binding proteins) will allow us to monitor the dynamic of these networks during development. This approach will be combined with a novel high-resolution microscopy technique (SOFI) developed in the lab of Prof. S.Weiss, to obtain data on the dynamics of developmental networks with unprecedented spatio-temporal resolution.

We are looking therefore for a bright and motivated student capable of interacting with biologists led by S.Vriz (zebrafish transgenics, micro-injection of appropriate DNA and RNA constructs, evolution of peptide libraries, etc.), with chemists led by L.Jullien (photo-chemical characterization of new fluorophores) and with physicists led by D.Bensimon (high resolution SOFI imaging in live embryos, modelling of morphogenesis). Candidates should submit a letter of motivation together with their CV and letters of recommendation from known researchers.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Nanobiophysique, UMR 7083 Gulliver, ESPCI
Adresse : 10 rue Vauquelin
Responsable(s) de Stage : Mathilde Bercy et Ulrich Bockelmann
Téléphone : 0140794459 **Email :** mathilde.bercy@espci.fr

Ecoles Doctorales de rattachement envisagées : ED "Physique en Ile de France"

Etude micromécanique de l'activité d'une ARN hélicase à boîte DEAD

Présentes chez tous les organismes, les protéines dites «à boîte D.E.A.D» (du nom de l'un de leurs motifs d'acides aminés conservés) jouent un rôle essentiel dans presque toutes les réactions impliquant l'ARN – épissage, transport, maturation, dégradation, édition... *In vitro*, elles hydrolysent l'ATP en présence d'ARN (activité ATPase), et beaucoup d'entre elles peuvent utiliser l'énergie correspondante pour ouvrir des courts duplexes d'ARN (activité ARN hélicase). Il est donc probable qu'*in vivo* elles servent à réarranger des structures secondaires d'ARN. Le mode d'action des ARN hélicases à boîte DEAD, qui convient bien à une action locale sur la molécule d'ARN sans destruction de sa structure générale, est radicalement différent de celui des hélicases impliquées dans la réplication de l'ADN, pourtant de structure très voisine: celles-ci sont des moteurs se déplaçant directionnellement sur les acides nucléiques simple-brin, ouvrant les duplexes de façon processive lorsqu'elles les rencontrent.

Nous souhaitons étudier l'activité ARN hélicase par des mesures de force, sur un piège optique mis au point au laboratoire. Ce dispositif permet d'étudier la conformation de molécules individuelles d'ARN en fonction d'une force imposée (schéma à gauche de la figure). Nous avons choisi de travailler sur la protéine DbpA, qui reconnaît spécifiquement une structure dans l'ARN (partie haute de la construction d'ARN présentée au milieu de la figure). Nos premiers résultats montrent l'effet de cette fixation spécifique à travers un changement de la courbe de déplie ment de l'ARN (partie droite de la figure).

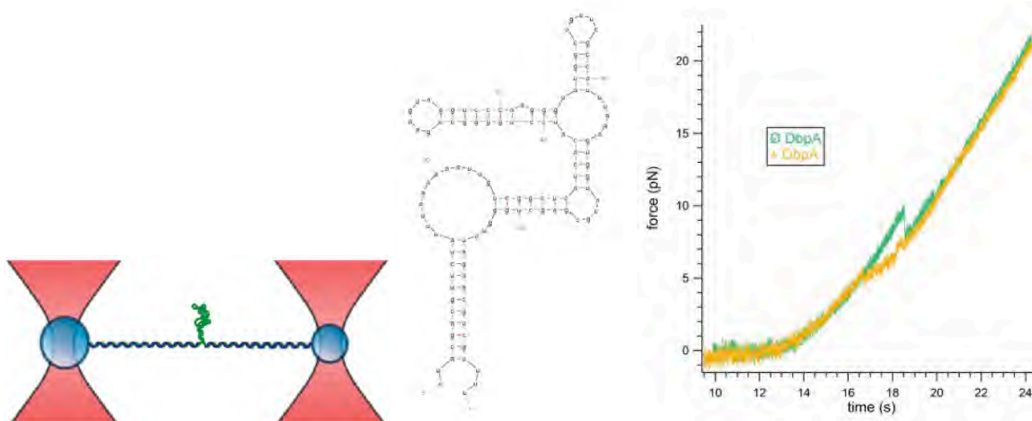


Figure. (Gauche) Double piège optique permettant de mesurer la force nécessaire pour séparer les extrémités d'une molécule d'ARN. (Milieu) Construction d'ARN préparée pour étudier l'activité de la protéine DbpA. (Droite) Diagrammes force-déplacement obtenues en tirant sur l'ARN en absence (courbe verte) et en présence (jaune) de la protéine.

La prochaine étape consiste à étudier l'activité micromécanique de DbpA en présence de l'ATP. La (le) stagiaire pourra participer aux mesures de force par piège optique ainsi qu'au

design et la préparation des constructions moléculaires. Ce projet est soutenu par l'ANR (projet «HelicARN»). Il associe deux laboratoires voisins, l'un travaillant en Physique (Nanobiophysique, ESPCI) et l'autre en Biologie (Expression Génétique Microbienne, IBPC). Le stage pourra déboucher sur un travail de thèse dans un cadre thématique plus général, qui porte sur des études micro-mécaniques de l'assemblage du ribosome [1, 2]. Il a été démontré que SrmB, protéine à boîte DEAD de la même famille d'ARN hélicases que DbpA, joue un rôle essentiel dans le repliement *in vivo* de la grande sous-unité du ribosome bactérien [3].

[1] P. Mangeol, T. Bizebard, C. Chiaruttini, M. Dreyfus, M. Springer and U. Bockelmann. Probing ribosomal protein-RNA interactions with an external force. **Proc Natl Acad Sci USA**, 108, 18272–6, 2011.

[2] P. Gross, N. Laurens, L. B. Oddershede, U. Bockelmann, E. J. G. Peterman, and G. J. L. Wuite. Quantifying how DNA stretches, melts and changes twist under tension. **Nature Physics**, 7, 731–6, 2011.

[3] F. Proux, M. Dreyfus, I. Iost. Identification of the sites of action of SrmB, a DEAD-box RNA helicase involved in Escherichia coli ribosome assembly. **Mol Microbiol**. 82, 300-311, 2011.

« PROPOSITION DE STAGE ET DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire Matière et Systèmes Complexes

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

Responsable(s) de Stage : Jean-François Berret

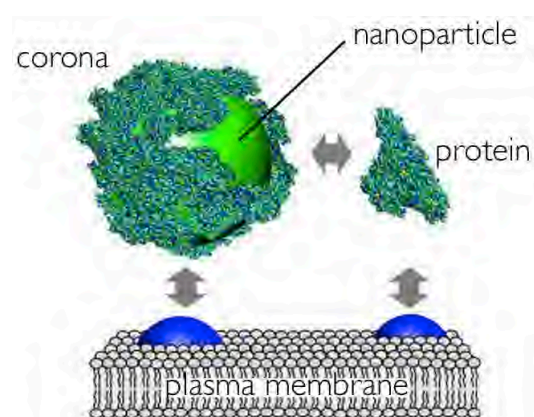
Téléphone : 01 57 27 61 47
01 57 27 61 52 **Email :** jean-francois.berret@univ-paris-diderot.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : ED 518 et ED 107

Titre du stage : "Protein corona" paradigm and nanotoxicity

Résumé : In the last years, engineered inorganic nanoparticles have emerged as fundamental constituents in the development of nanotechnology. Concerns have been raised however regarding their potential risks for human health and for the environment. In *in vivo* assays however, the effective unit of interest is not the nanoparticles itself, but the particle and its "corona", which implies the layer that forms around the particles, with associated proteins or biomolecules coming from the surrounding biological fluid.

In this project, we will evaluate the validity of the "protein corona" paradigm by studying biological fluids that are close to real life biofluids and determine the corresponding nanoparticle-protein interactions. One fluid among all biological fluids is significantly relevant for human safety, the serum of the blood. The serum is the yellowish liquid that includes the proteins (except those used in blood clotting) and biological molecules such as antibodies, antigens, hormones, and any exogenous substances.



The protein corona that forms around nanoparticles dispersed in biofluids plays an important role in the evaluation of the nanotoxicity.

The present project aims to study the "Protein corona" in conditions that are close to those of real life and natural environments. This will be realized by:

1 - A pertinent choice of particles known to impact human health on production sites and in polluted areas. These particles are nano-oxides responsible for inflammations, diseases and dysfunctions of cells.

2 - The effect of composition of the biofluid on particle corona will be studied, the goals being the identification and physical properties of the surrounding matrix and its influence on the nanoparticles/cell interactions and toxicity. Experiments assessing the protein corona will be light scattering, electrophoretic mobility, scanning and transmission electron microscopy. *In vitro* assays with protein coated particles will complete the study.

Recent References on this work

M. Safi, H. Sarrouj, O. Sandre, N. Mignet and J.-F. Berret, *Interactions between sub-10 nm iron and cerium oxide nanoparticles and 3T3 fibroblasts : the role of the coating and aggregation state, Nanotechnology 21 (2010) 145103*

M. Safi, M. Yan, M.-A. Guedeau-Boudeville, H. Conjeaud, V. Garnier-Thibaud, N. Boggetto, A. Baeza-Squiban, Florence Niedergang, D. Averbek and J.-F. Berret, *Interactions between magnetic nanowires and living cells : Uptake, toxicity and degradation, ACS Nano 5 (7), 5354-5364 (2011)*

M. Safi, J. Courtois, M. Seigneuret, H. Conjeaud and J.-F. Berret, *The effects of aggregation and protein corona on the cellular internalization of iron oxide nanoparticles, Biomaterials 32 (2011) 9353-9363*

Research projects 2013-2014 Master 1 / Master 2 / PhD

Berret Jean-François / Charron Gaelle

Université Paris-Diderot - Laboratoire Matière et Systèmes Complexes

UMR 7057 Université Paris-Diderot/CNRS, Batiment Condorcet, 10 rue Alice Domon et

Léonie Duquet, F-75205 Paris Cedex 13

Ecoles doctorale de rattachement : Physique et Systèmes Biologiques

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

Web site - <http://www.msc.univ-paris-diderot.fr/~berret/>

Interactions of Nanoparticles with Lung Fluid and Cells

Nanoparticles (NPs) have emerged as fundamental constituents in the development of nanotechnology. Concerns have been raised however regarding their potential risks for human health and for the environment. It has been realized that interactions of NPs with living cells depend dramatically on their behavior in biological fluids ¹. The effective unit of interest is not the NP itself, but the particle and its “corona”, which implies the layer that forms around the particles, with associated proteins or biomolecules coming from the surrounding biological fluid ². Because of the importance of this “surrounding matrix”, it is necessary to study biological fluids that are close to real life biofluids and determine the corresponding nanotoxicity ³. One fluid among all biological fluids is significantly relevant for human safety, the lung fluid. It represents the first barrier against inhaled particles (Figure 1).

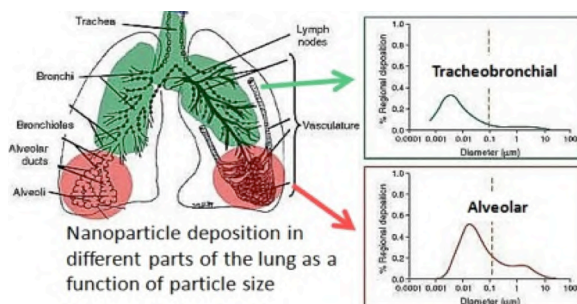


Figure 1 : Representation of the different levels of the lung, showing tracheobronchial and alveolar compartments (left). Percentage of deposition as a function of the particle size (right).

In this project, we will study the

interactions of different types of nanoparticles in lung fluids. The aims of the project are:

- 1) To construct a biomimetic lung fluid to act as the model biological medium for studying interactions of NPs and cells. The lung fluid is composed of mainly phospholipids and surfactant proteins, which will form the nanoparticle corona constituents. A lung fluid will be constructed using the real constituents, including the surfactant proteins. A model LF will also be employed as a comparison.
- 2) To study different types of nanoparticles with different size and charge properties for their interaction with the lung fluid, how the nanoparticle corona forms, and how does the final nanoparticle corona interacts with the lung epithelial cells.

Recent References on this work

1. N. Lewinski, V. Colvin and R. Drezek, *Small*, 2008, 4, 26-49.

2. M. P. Monopoli, C. Aberg, A. Salvati and K. A. Dawson, *Nat. Nanotechnol.*, 2012, 7, 779-786.

3. R. Landsiedel, L. Ma-Hock, A. Kroll, D. Hahn, J. Schneckeburger, K. Wiench and W. Wohlleben, *Adv. Mater.*, 2010, 22, 2601-2627.

Titre du stage : Rôle des septines de levure dans un système biomimétique membranaire

Laboratoire : Physicochimie curie, UMR CNRS 168, Equipe D. Levy

Adresse : 11 rue Pierre et Marie Curie, 75005 Paris

Responsable(s) de Stage : Aurélie Bertin

Téléphone : 01 56 24 67 82

Email : Aurelie.bertin@curie.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : Complexité du vivant ED 515

Les septines constituent des filaments du cytosquelette liés à la membrane interne et au cortex cellulaire. Elles jouent un rôle primordial dans des processus cellulaires essentiels qui induisent des remodelages de la membrane (constriction, invagination, rétraction) en interagissant avec des phosphoinositides (PIP2). Nous avons mis en évidence une plasticité et une variabilité de l'organisation ultrastructurale des septines *in vitro* et *in situ* par des méthodes de cryo-microscopie électronique (figure 1, gauche) (1-3).

In vitro, nous souhaitons caractériser le rôle des septines dans le remodelage membranaire et tester leur rôle direct dans la séquestration et la réorganisation de protéines transmembranaires ou liées à la membrane. Pour ce faire nous utiliserons des systèmes membranaires biomimétiques qui seront analysés par cryo-microscopie 2D et cryo-tomographie :

- Monocouches lipidiques
- Vésicules LUV (Large unilamellar Vesicles : 100-200 nm)

Nous avons d'ores et déjà montré que les septines sont capables de déformer des vésicules renfermant du PIP2 en induisant la formation de plaques et de protusions (Figure 1, droit). La composition en lipides, les rapports protéines/lipides seront variés afin de mieux comprendre le rôle de ces protéines dans ces processus de déformation.

Des protéines membranaires modèles seront ensuite insérées dans ces membranes afin d'analyser le rôle des septines dans l'organisation et *in fine* la séquestration de ces protéines. La cryo-microscopie permettra de décrire ces objets protéo-lipidiques à des résolutions nanométriques. Ces analyses structurales seront couplées à des analyses en microscopie optique, en utilisant des GUV (> 10µm), afin d'avoir accès à la dynamique du système.

Le stage implique l'utilisation de méthodes de microscopies (électronique et optique) complémentaires et de pointe ainsi que de méthodes de traitement d'images. Le (la) stagiaire bénéficiera d'un environnement matériel privilégié et performant, les microscopes électroniques ayant été renouvelés début 2013. Ce projet est financé par une ANR jeune chercheuse et bénéficie de collaborations en France et à l'étranger.

1. A. Bertin et al. (2012), *Molecular Biology of the Cell*, 23(3), 423-432.

2. A. Bertin et al. (2010), *J. Mol. Biol.*, 404(4), 711-31.

3. A. Bertin et al. (2008), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105, 8274-8279

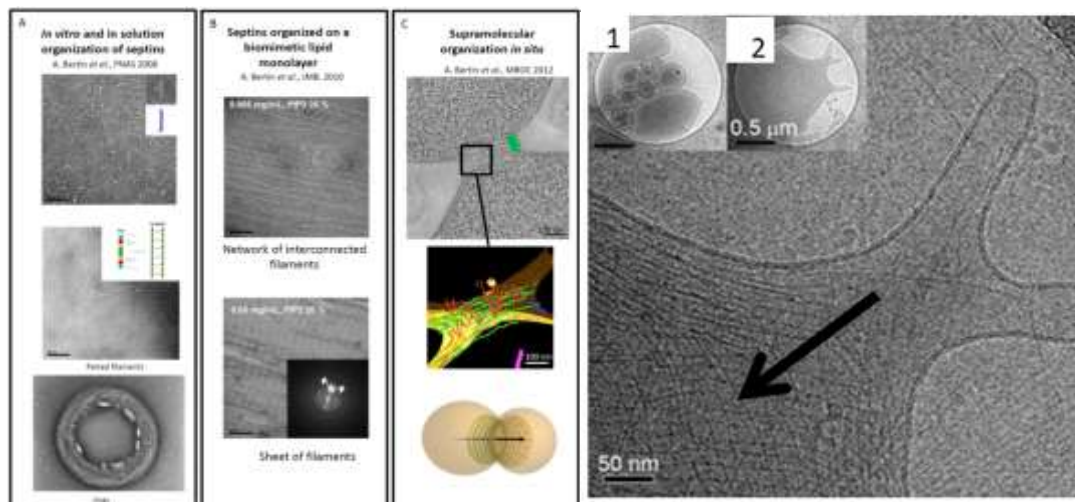


Figure 1. gauche : Organisation des septines *in vitro*, en solution (A), sur monocouche lipidique(B) et *in situ* (C), analysée par microscopies électroniques. Droite : Déformation de vésicules induite par les filaments de septines.

« PROPOSITION DE STAGE »

Laboratoire:
NeuroSpin / UNIRS

Adresse :
CEA-Saclay Bât. 145,
91191 Gif-sur-Yvette Cedex

Responsable(s) de Stage :
Fawzi Boumezbeur

Téléphone :
01 69 08 94 35

Email : fawzi.boumezbeur@cea.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées :
STITS (Sciences et Technologie de l'Information, des Télécommunications et des Systèmes),
ED n° 422

Titre du stage :
Développement de la spectroscopie RMN $^1\text{H}/^{31}\text{P}$ à très hauts champs magnétiques

Résumé :

Contexte :

A très haut champ magnétique, la spectroscopie RMN bénéficie d'un meilleur signal-à-bruit ainsi que d'une meilleure résolution spectrale. Par conséquent, le développement et l'implémentation de méthodologies de spectroscopie RMN ^1H et ^{31}P optimisées devraient permettre la détection et la quantification de près d'une vingtaine de métabolites dont les rôles sont pertinents pour l'exploration du métabolisme cérébral en conditions normale ou pathologique. Par ailleurs, la spectroscopie ^{31}P offre un aspect dynamique à l'exploration du métabolisme énergétique via la mesure du flux de synthèse d'ATP *in vivo*.

Sujet du stage :

Les objectifs de ce stage sont :

- 1) mise en place d'un protocole d'exploration du métabolisme cérébral par Spectroscopie RMN localisée du ^1H et du ^{31}P chez le rat à 11,7 Tesla,
- 2) implémentation d'une séquence de transfert de saturation pour la mesure de V_{ATP} ,
- 3) acquisition de données chez le rat sain et
- 4) analyse des données *in vivo*.

Si possible, le stagiaire aura l'opportunité de travailler sur système clinique à 7T afin de tester les outils mis en place chez l'homme.

Conditions du stage :

Le stage s'effectuera à NeuroSpin, le centre de RMN à très hauts champs magnétiques du CEA, pour une durée de 4 à 6 mois. Le stagiaire travaillera au sein de l'équipe pluridisciplinaire de l'UNIRS, qui regroupe des spécialistes en électronique, méthodologie RMN, etc... Il bénéficiera des ressources techniques de NeuroSpin. En fonction des opportunités de financement, le stage devrait idéalement mener à une thèse.

Sujet du stage					
Optical study of de- and re-myelination in the rodent cortex					
Adresse précise du Laboratoire :		IBENS, Ecole Normale Supérieure, 46 rue d'Ulm 75005 Paris			
Responsable du Stage					
Nom :		Laurent Bourdieu			
Numéro de téléphone :		01	44	32	37 34
Adresse électronique :		laurent.bourdieu@ens.fr			
Profil de l'étudiant(e) souhaité :		optique et neurosciences			
Sujet de stage (et principales techniques) : Optical study of de- and re-myelination in the rodent cortex					
<p>The myelin sheath is an essential component of the vertebrate nervous system. Disruption of the myelin sheath is involved in multiple pathologies in the central (CNS) and the peripheral (PNS) nervous systems. Multiple sclerosis (MS) is the most frequent demyelinating disease in adulthood and is characterized by the occurrence of clinical alterations, synchronous with epochs of demyelination, followed by partial remission periods, involving spontaneous endogenous remyelination. MS diagnosis and evolution are usually followed by Magnetic Resonance Imaging (MRI), which allows rapid identification of MS lesions in particular in regions filled with compact bundles of myelin fibers (white matter). On the other hand, several experimental evidences have recently demonstrated the existence of cortical lesions, which are now thought to represent a major prognostic factor for disability among MS patients. Current MRI techniques usually fail to visualize a major part of these cortical lesions due to weak spatial resolution and the sparse cortical network of fibers in the cortex resulting in poor contrast for myelin.</p> <p>We propose here to use two-photon microscopy to visualize and quantify longitudinally myelin state in the rodent cortex during a model of cortical de- and re-myelination based on a cuprizone diet. Severe cortical demyelination is observed in the cortex after 6 weeks of diet. This de-myelination is reversed when the diet is stopped. We have shown that these de- and re-myelination processes can be followed chronically by two-photon microscopy using PLP-GFP transgenic mice (generated by B Zalc, INSERM-CRICM). This strain expresses the GFP protein under the control of the plp gene promoter of the proteolipid protein (PLP), which is the major protein component of CNS myelin.</p> <p>In this project, we will measure the kinetics of de- and re-myelination in these intoxicated mice. Two main questions will be addressed.</p> <p>1) In the cortex, two main types of myelinated fibers can be distinguished: fibers parallel to the surface of the cortex in the layer 1 and fibers perpendicular to the cortical layers in layers 2 to 6. We will study whether the kinetics of de- and re-myelination are different among those different fibers, as suggested by preliminary experiments. These experiments will be complemented by anatomical studies (using viral injection of fluorescent tracers) aiming at mapping the origin of these two different subsets of fibers and at probing their cortico-cortical or thalamo-cortical nature. The results of this study will be used to estimate the possible functional consequences of this cortical demyelination.</p> <p>2) We will also probe whether our model allows the evaluation of various treatments for re-myelination at an unprecedented degree of precision (inhibitory and excitatory nature of neurons whose axons are myelinated, de-myelinated and re-myelinated, identity of fibers on which re-myelination occurs with respect to the previously demyelinated ones, ...). We will test the modification of re-myelination kinetics when MS treatments are applied: retinoic acid and testosterone treatments during the course of the recovery periods will be administrated. This work will be performed in collaboration with Bruno Stankoff (CR-ICM, Paris)</p>					

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire :
Laboratoire de Neurophysiologie et
Nouvelles Microscopies, Inserm
U603, Université Paris Descartes

Adresse :
45 Rue des Saints-Pères, 75006,
Paris

Responsable(s) de Stage :
Serge Charpak

Téléphone : 0662450589

Email:
serge.charpak@parisdescartes.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées :
ED3C (ED 158) , FdV (474)

Titre du stage :

Cartographie à très haute résolution de la PO₂ cérébrale (Imagerie bi-photonique de fluorescence et de phosphorescence, *in vivo*). Analyse du rôle de l'activité neuronale et de l'organisation vasculaire.

Résumé :

Le coût économique de la prise en charge des pathologies cérébrales liées à une anoxie est extrêmement élevé. Pour comprendre la relation entre l'oxygénation, le flux sanguin et les lésions cérébrales, et dans le long terme comment des thérapeutiques pourraient être optimisées pour réduire les dommages neuronaux, il est important de déterminer comment l'oxygène est délivré et consommé par les neurones *in vivo*. Suite à la synthèse récente du PtP-C343, une sonde bi-photonique phosphorescente sensible à l'oxygène, nous avons utilisé l'imagerie de phosphorescence (two-photon phosphorescence lifetime microscopy ou 2PLM) pour effectuer des mesures de la concentration en oxygène *in vivo*, avec une résolution micrométrique dans le cerveau de rongeurs anesthésiés. Ainsi, nous avons pu quantifier la pression partielle d'oxygène (PO₂) dans les vaisseaux et le neuropile du glomérule olfactif bulbaire (Lecoq et al., 2011 Nature. Med. ;Parpaleix et al., 2013, Nature. Med.). Nous avons démontré deux points importants pour le projet :

- La possibilité de mesurer simultanément le débit sanguin des globules rouges et la PO₂ dans les capillaires. Cela a permis de révéler la présence de transitoires de PO₂ particuliers, ou erythrocyte-associated transients (EATs), c'est-à-dire des pics de PO₂ associés au passage de chaque érythrocyte circulant dans les capillaires. Le point intéressant est que la valeur de la PO₂ à mi-distance entre deux globules rouges (nommée PO₂ interRBC), peut être utilisée pour évaluer indirectement la PO₂ dans le tissu voisin.
- La PO₂ varie selon les couches du bulbe olfactif

Le projet consistera, dans une première étape, à analyser la répartition spatiale de la PO₂ au repos, dans les couches superficielles du bulbe olfactif en utilisant la 2PLM. Dans un second temps, l'application locale de drogues, antagonistes des transmissions synaptiques glutamatergique et GABAergique, permettra de déterminer le rôle de l'activité neuronale ou gliale et de l'organisation vasculaire, dans l'établissement de la cartographie spatiale de la PO₂.

Research projects 2013-2014 Master 1 / Master 2 / PhD

Berret Jean-François / Charron Gaelle

Université Paris-Diderot - Laboratoire Matière et Systèmes Complexes

UMR 7057 Université Paris-Diderot/CNRS, Batiment Condorcet, 10 rue Alice Domon et

Léonie Duquet, F-75205 Paris Cedex 13

Ecoles doctorale de rattachement : Physique et Systèmes Biologiques

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

Web site - <http://www.msc.univ-paris-diderot.fr/~berret/>

Magneto-fluorescent Nanowires for in Vitro Applications

Magnetic nanowires have attracted much interest recently because of their potential applications in sensing, micromechanics, microfluidics and cell manipulation. Magnetic nanowires are elongated objects in the μ -meter range, which can be actuated by the application of an external magnetic field (Figure 1). Their motion of rotation provides information of the viscosity of the fluid.

At the Laboratory Matière et Systèmes Complexes in Paris, we have developed a method to synthesize magnetic nanowires of length 1 – 10 μ m that can be internalized into living cells and tissues. With these probes, we study the biomechanics of cells. To improve the contrast of the wires, we wish to add a fluorescent functionality while keeping the magnetic properties unchanged. Bimodal nanowires can be obtained by incorporating fluorescent semi-conductor nanoparticles, called quantum dots into the wires. The fluorescence properties of the quantum dots are modulated by a change of the particle size (Figure 2).

The objectives of the internship are:

- The coating and characterization of quantum dots in solutions
- The synthesis of bimodal wires with fluorescent and magnetic properties
- The imaging of wires inside living cells at different stages of the internalization.

During the internship, the student (M1, M2) will have the opportunity to learn different techniques of physical-chemistry and biophysics, including the purification of nano/bio materials, spectroscopy, gel electrophoresis, optical and confocal microscopy and cell culture.

Recent References on this work

M. Safi, M. Yan, M.-A. Guedeau-Boudeville, H. Conjeaud, V. Garnier-Thibaud, N. Boggetto, A. Baeza-Squiban, Florence Niedergang, D. Averbeck and J.-F. Berret, *Interactions between magnetic nanowires and living cells : Uptake, toxicity and degradation*, *ACS Nano* 5 (7), 5354-5364 (2011)

M. Safi, J. Courtois, M. Seigneuret, H. Conjeaud and J.-F. Berret, *The effects of aggregation and protein corona on the cellular internalization of iron oxide nanoparticles*, *Biomaterials* 32 (2011) 9353-9363

J.-P. Chapel and J.-F. Berret, *Versatile Electrostatic Assembly of Nanoparticles & Polyelectrolytes: Coating, Clustering and Layer-by-Layer Processes*, *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 17, 97-105 (2012)

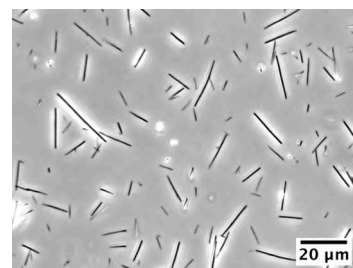


Figure 1 : Optical microscopy image of magnetic nanowires

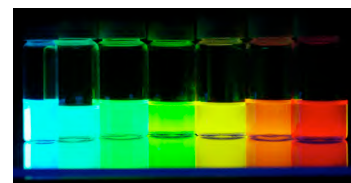


Figure 2 : Fluorescent dispersion of quantum dots of different sizes between 4 nm (blue) and 10 nm (red)

Research projects 2013-2014 Master 1 / Master 2 / PhD

Berret Jean-François / Charron Gaelle

Université Paris-Diderot - Laboratoire Matière et Systèmes Complexes

UMR 7057 Université Paris-Diderot/CNRS, Batiment Condorcet, 10 rue Alice Domon et

Léonie Duquet, F-75205 Paris Cedex 13

Ecoles doctorale de rattachement : Physique et Systèmes Biologiques

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

Web site - <http://www.msc.univ-paris-diderot.fr/~berret/>

Biomechanics of cancer cells

Cancerous metastatic cells can escape a solid tumor, reach a distant location and erupt into a secondary tumor. This feature has led biologists to propose the hypothesis that cancerous cells have specific mechanical properties, very different indeed from healthy cells. This hypothesis was verified recently using osteosarcoma cells from bone cancer. It was found that the cytoplasm and the nuclei deform considerably when deposited on patterned substrates (Figure 1). In contrast, healthy cells do not deform and remain at the top of the pillars [1].

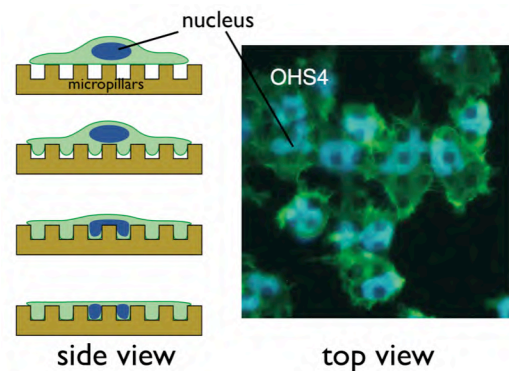


Figure 1: Osteosarcoma cells deform to adapt their environment, here patterned micropillars [1].

The goal of this internship is to measure the viscosity of cell interiors using magnetic nanowires and optical microscopy. These wires are in the micron range and were found to be easily internalized by cells. They are also excellent probes for the measure of viscosity [2]. Magnetic nanowires are interesting because they can also be remotely actuated by the application of an external magnetic field (Figure 2).

The objectives of the internship are:

- The synthesis of magnetic nanowires
- The culture of an osteosarcoma cell line, the internalization and the tracking of wires by optical microscopy.
- The measure of the viscosity of the interior of cells, cancerous and healthy.
- The confirmation or rebuttal of the model proposed by the biologists for the specific mechanical properties of cancer cells.

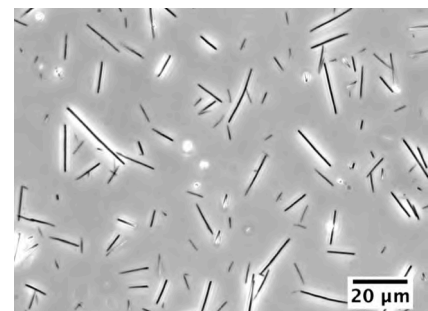


Figure 2 : Optical microscopy image of magnetic nanowires [2]

During the internship, the student (M1, M2) will have the opportunity to learn different techniques of physical-chemistry and biophysics, including the manipulation of nano/bio materials, optical microscopy, cell culture and magnetism.

Recent References on this work

[1] F. Badique, D. R. Stamov, P. M. Davidson, M. Veuillet, G. Reiter, J.-N. Freund, C. M. Franz, K. Anselme, Directing nuclear deformation on micropillared surfaces by substrate geometry and cytoskeleton organization, *Biomaterials* 34 (2013) 2991e3001

[2] R. Colin, L. Chevy, B. Abou and J.-F. Berret, Intracellular microrheology probed by micron-sized wires, *Biomaterials* 34 (2013) 6299 - 6305

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Nanobiophysique, UMR 7083 Gulliver, ESPCI
Adresse : 10 rue Vauquelin
Responsable(s) de Stage : Ismaïl Cissé et Ulrich Bockelmann
Téléphone : 0140794459 **Email :** ismaïl.cissé@espci.fr

Ecoles Doctorales de rattachement envisagées : ED "Physique en Ile de France"

Amplification par cercle roulant suivie d'une détection sur puce à ADN

Il existe un besoin pressant pour des dispositifs portables permettant de détecter et quantifier de manière rapide et fiable des pathogènes viraux et bactériens. De tels dispositifs reposent sur l'utilisation d'une technique d'amplification des acides nucléiques couplée à une technique de détection.

Au sein du Laboratoire de Nanobiophysique a été développée une technique d'amplification isotherme simple et rapide permettant la détection de très faibles quantités d'acides nucléiques. Cette technique, la "tagged hyperbranched rolling circle amplification" (THRCA) de par sa versatilité peut être associée à différents types de détection.

L'objet de ce stage est la détection par mesure de fluorescence de produits de THRCA après hybridation sur une surface dans un format de type micro-array. Les produits de la THRCA sont des multimères double brin périodiques de taille variables, très inhabituels pour une analyse sur puce à ADN. Il s'agira entre autres de caractériser la cinétique d'hybridation des molécules, et les effets des conditions salines et de pH. Un autre objectif est d'optimiser le système de sorte que l'on puisse réaliser la détection en sortie d'amplification sans purification et dans un délai inférieur à 10 min. Les résultats obtenus pourront être appliqués à la détection électronique de l'ADN par un réseau de transistors.

Les techniques mises en œuvre dans ce stage à caractère expérimental englobent l'amplification par cercle roulant d'une cible d'ADN, les techniques de base de la biologie moléculaire, l'utilisation de dispositifs robotiques de micro dépôts et les mesures de fluorescence.

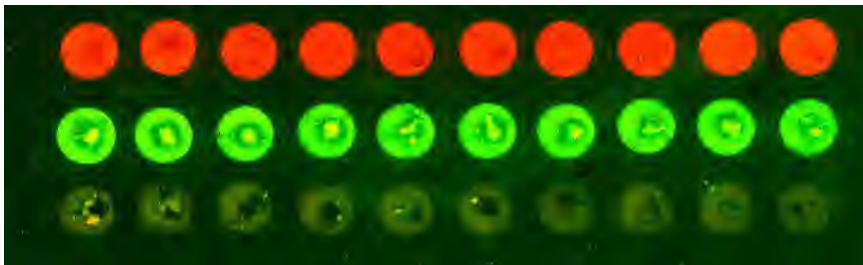


Figure. Illustration d'une détection spécifique de l'hybridation par mesure de fluorescence sur puces à ADN. Trois lignes de dix spots (le diamètre de chaque spot est d'environ 200 microns) ont été déposées sur une lame de verre. Les molécules cibles complémentaires aux sondes de la ligne de haut portent des fluorophores qui émettent dans le rouge, les cibles complémentaires aux sondes de milieu portent des fluorophores qui émettent dans le vert. Les sondes de la ligne de bas ne trouvent pas de molécules complémentaires dans la solution.

«PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE»

Laboratoire : PMMH-ESPCI
Adresse : 10, rue Vauquelin 75005 Paris
Responsable(s) de Stage : Eric Clément
Téléphone : 0140794714 Email : Eric.clement@upmc.fr

ED 389- la physique de la particule à la matière condensée

Organisation collective d'une suspension de bactéries magnétotactiques



Par une approche expérimentale impliquant des outils de la micro-fluidique, nous étudions la dynamique de formation d'une niche écologique formée par une souche de bactéries magnétotactiques (Mgryph). Ces bactéries micro-aérophiles se meuvent selon les gradients d'oxygène ce qui leur permet de s'organiser collectivement en nageant le long des lignes de champ et ainsi trouver un environnement favorable à leur survie. Toutefois, les modes de propulsion et de détection magnéto et aéro-taxiques sont

encore fort mal compris. À cette fin, nous avons mis au point une unité micro-fluidique pouvant être placée sur la platine d'un microscope inversé à fluorescence qui permet de contrôler les gradients en oxygène ainsi que les champs magnétiques environnants. Cette approche expérimentale permet une observation directe de la bactérie (type sauvage ou mutants) en utilisant des techniques de vidéo rapide et de haute sensibilité qui mèneront à une compréhension approfondie des comportements individuels et collectifs. Nous souhaitons in-fine construire un modèle dynamique décrivant la motilité et l'auto-organisation spatiale de ces populations en présence de contraintes environnementales.

Dissection of information processing in cell polarity with quantitative optogenetics

Laboratory: Physicochimie Curie - Institut Curie / CNRS UMR 168 / UPMC

Group : Light Observation and Control of Cellular Organization (LOCCO)

Supervisors: Dr. Mathieu Coppey, Dr. Maxime Dahan

Contact : mathieu.coppey@curie.fr, maxime.dahan@curie.fr

Subject:

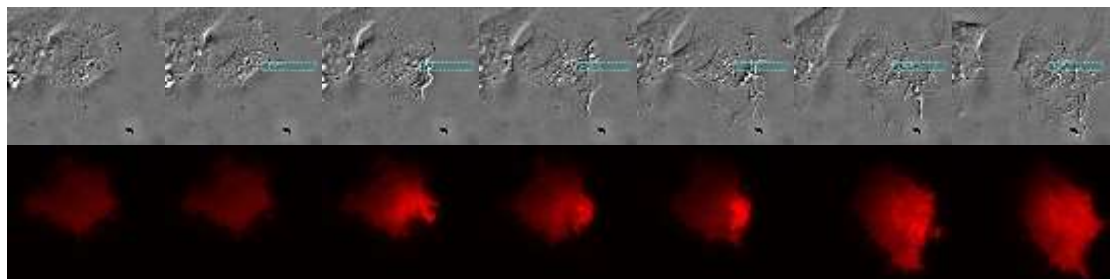
The cell architecture and dynamics are controlled by a complex biochemical circuitry able to process information from environmental cues in order to drive the cell into functional states accordingly. For instance, cells get polarized as they migrate or divide. To do so, they have to amplify local and transient signals into stable and system-level asymmetries. This process relies on the advanced computational tasks - such as amplification, adaptation, filtering, integration, and decision-making - done by a group of signaling proteins acting collectively in a specific local structure. Despite its essential role in the signal processing underlying the cellular response and functions, the tight spatiotemporal coordination of the network of interacting proteins in a given local cell architecture remains poorly understood.

In this context, we propose to develop an experimentally driven systemic approach applied to the cell polarization in a well-documented biological model: a migrating fibroblast. The student will make use of optogenetic techniques to trigger biochemical modifications with a spatial and temporal resolution not accessible with the conventional molecular and pharmacological toolkit. By combining these optogenetic tools to induce localized signaling perturbations with live cell imaging of the cell response and possibly mathematical modeling, our goal is to dissect the signal processing done by the network of regulators and address the following fundamental questions:

- 1) How is signal processing coupled to the physical architecture of the cell?
- 2) Can we distinguish causal links from correlations at the whole scale of the cellular protein network?
- 3) What is the information support that drives the transitions between cellular states?
- 4) How are the cell sensitivity and robustness with regards to local perturbations conditioned by the cellular environment?

Our ultimate goal is thus to establish an integrated and quantitative framework of the signal processing that translates information contained in molecular events into system-level functions.

*Light
induced
cell polarity
and
migration*



Experimental techniques:

Live cell imaging, biophysics, image processing, molecular and cellular biology.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : PHYSICO-CHEMIE CURIE, UMR168

Adresse : 11 rue Pierre et Marie Curie 75005 Paris

Responsable(s) de Stage : Maxime DAHAN

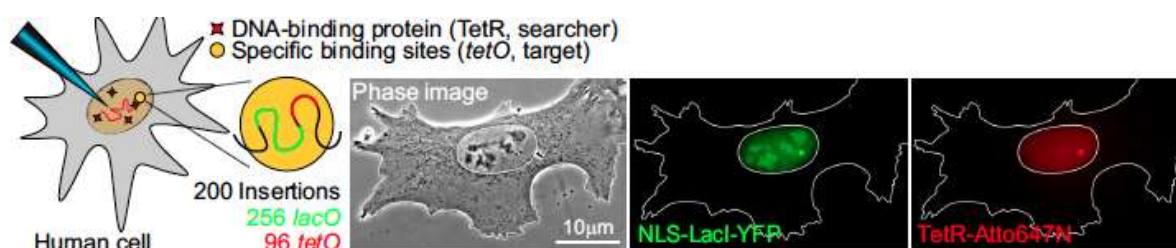
Téléphone : 01 56 24 67 54 - Email : maxime.dahan@curie.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : ED 389

Titre du stage : Target search mechanisms of individual DNA-binding proteins in living cells

Résumé : Our work is aimed at elucidating how DNA-binding proteins find their specific binding sites on the genome in living cells. Such search processes are very general and are fundamental aspects of all cellular mechanisms that involve direct actions at specific loci on the genome, such as, for instance, DNA duplication, transcription and repair. This question has led to many physical models but experimental data remain sparse.

During the internship, we propose to use optical microscopy experiments (including 3D single-molecule-tracking and super-resolution imaging) in living cells in order to directly visualize and quantify the target search processes. Our assay is based on human cells containing, at a single locus, specific DNA binding sites ('target') for an exogenous DNA-binding protein (TetR, 'searcher'). Overall, our goal is to answer general questions still poorly understood: (i) to what extent the ubiquitous presence of nonspecific DNA determines the search process?; (ii) does the nuclear architecture affect the exploration of DNA-binding proteins?; (iii) what is the efficacy of binding at the target site? By means of single molecule tools, we expect to directly and quantitatively access the biochemical parameters that govern the dynamics of nuclear factors.



Experimental techniques: Live cell imaging, single molecule microscopy, image processing, molecular and cellular biology.

References:

- Cisse *et al.*, Real-time dynamics of RNA polymerase II clustering in live human cells. *Science* **341**, 664 (2013)
- Abrahamsson *et al.*, Fast multicolor 3D imaging using aberration-corrected multifocus microscopy. *Nature Methods* **10**, 60 (2013)
- Beheiry & Dahan, ViSP: representing single-particle localizations in three dimensions. *Nature Methods* **10**, 689 (2013)
- Normanno, Dahan & Darzacq, Intra-nuclear mobility and target search mechanisms of transcription factors: a single-molecule perspective on gene expression and regulation, *Biophysica and Biochemica Acta* **1819**, 482 (2012).

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : PHYSICO-CHEMIE CURIE, UMR168

Adresse : 11 rue Pierre et Marie Curie 75005 Paris

Responsable(s) de Stage : Maxime DAHAN

Téléphone : 01 56 24 67 54 - Email : maxime.dahan@curie.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : ED 389

Titre du stage : Light-sheet imaging for single molecule imaging and super-resolution microscopy in live cells: application to nuclear dynamics and organization

Résumé : Our group is interested in understanding the mechanisms that govern the mobility of individual proteins in live cells. In particular, we have a strong interest in the dynamics of nuclear factors, in order to decipher how DNA-binding proteins explore the nucleus to bind to non-specific and specific sequences (Normanno et al. 2012), or to assemble in functional complexes (Cisse et al. 2013). To this end, we apply a large set of optical tools to localize and track single nuclear factors in the 3D environment of live cells.

In a conventional wide-field microscope, several factors make the 3D localization delicate. First, due to epifluorescence illumination, off-focus emitting fluorophores contribute to the background signal and limit the detection sensitivity. Also, they can be photobleached before being properly imaged, resulting in a waste of information. To overcome some of these limitations, we have recently developed a multifocus microscope that enables volumetric imaging at high acquisition rate (Abrahamson et al. 2013). Yet, this approach is still limited to the imaging of sparse molecules. For many studies on the chromatin organization or for the mapping of the nuclear environment, it would be very desirable to obtain high-density single molecule data, for which advanced computational tools can be applied. In this internship, we propose to develop a single-molecule microscope based on selective plane excitation. By illuminating the sample with a thin light sheet, the background from off-focus fluorophores is largely eliminated, thus increasing the signal to noise ratio. We will consider two different approaches to generate a light sheet, using either a beam focused with a cylindrical lens or using temporal focusing. The use of the microscope will be validated by looking at the dynamics of transcription factors in live cells or with PALM/STORM images of chromatin using histones fused to photoactivatable tags.



Figure: Schematic of light sheet illumination for single-molecule imaging. Only fluorophores in the light sheet are excited.

Experimental techniques: Live cell imaging, single molecule microscopy, image processing, molecular and cellular biology.

References: Cisse *et al.*, Real-time dynamics of RNA polymerase II clustering in live human cells. *Science* **341**, 664 (2013). Abrahamsson *et al.*, Fast multicolor 3D imaging using aberration-corrected multifocus microscopy. *Nature Methods* **10**, 60 (2013). Masson *et al.*, “Mapping the energy and diffusion landscapes of membrane proteins at the cell surface using high-density single-molecule imaging and Bayesian inference», *Biophysical Journal* (under revision)

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (Université de Grenoble 1)

Adresse : 140, rue de la physique - Université Joseph Fourier - Domaine universitaire ;

BP 87 - 38402 Saint Martin d'Hères Cedex 9 – France

Responsables de Stage : Antoine DELON / Giovanni CAPPELLO

04 76 63 58 01 / 04 76 51 47 98 ; antoine.delon@ujf-grenoble.fr / Giovanni.Cappello@curie.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées :

ED47 ; Ecole Doctorale de Physique de Grenoble

Titre du stage : Influence du stress mécanique sur la croissance d'une tumeur en croissance

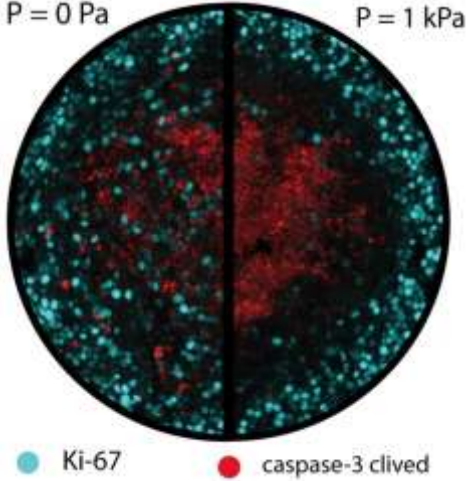
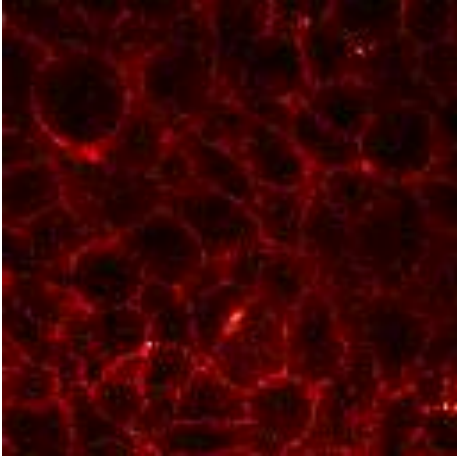
Résumé :

Il est de plus en plus admis que la prolifération cellulaire au sein d'une tumeur est non seulement liée aux aberrations génétiques, mais également à son microenvironnement^{1,2}. Des travaux pionniers^{3,4} sur des assemblages sphériques de cellules cancéreuses, appelés sphéroïdes, ont montré que la croissance d'une tumeur est ralentie par un stress mécanique. Plus précisément, il a été observé qu'un stress compressif isotrope (500-5000 Pa) inhibe la prolifération cellulaire au centre d'un sphéroïde, alors qu'il n'a pas d'effet sur la division des cellules superficielles, ni sur la mort cellulaire^{5,6}. On sait par ailleurs que cette même pression n'affecte quasiment pas le comportement de cellules isolées, en croissance sur une surface de verre. La différence de comportement entre les cellules à 2D et à 3D indique que, dans un sphéroïde, l'interaction entre cellules fait émerger une sensibilité au stress mécanique. Le médiateur des interactions intercellulaires est probablement à chercher dans les molécules de signalisation, celles d'adhésion entre cellules et dans la matrice extracellulaire.

Notre hypothèse de travail repose sur le fait qu'une cellule isolée répond faiblement à la compression isotrope de 500-5000 Pa, car sa pression osmotique interne est de deux ordres de grandeur plus élevée ($\sim 8e5$ Pa). Au contraire, la matrice extracellulaire a un module de compression inférieure à 1000 Pa et est perméable à l'eau. Comme une éponge, la matrice pourrait s'écraser sous une pression mécanique du même ordre de grandeur et activer une voie de signalisation qui induit l'arrêt du cycle chez les cellules de la tumeur.

Nous proposons de sonder les propriétés de la matrice extracellulaire en utilisant des molécules fluorescentes qui diffusent au sein de la matrice extracellulaire : si celle-ci s'écrase sous l'effet de la pression, la diffusion des molécules-sondes doit être ralentie. Pour cela nous utiliserons une technique de microscopie appelée spectroscopie à corrélation de fluorescence. Cependant, l'observation d'objets hétérogènes comme les sphéroïdes étant rendue difficile par les aberrations optiques qu'ils engendrent, nous corrigerons ces aberrations avec une méthode d'optique adaptative⁷. Il pourra d'ailleurs être intéressant, en parallèle d'expériences sur les sphéroïdes proprement dits, d'utiliser des milieux modèles de la matrice extracellulaire, afin d'isoler les aspects purement mécaniques et de s'affranchir d'effets optiques parfois complexes.

Le stage impliquera donc de maîtriser la manipulation de sphéroïdes, ainsi qu'un microscope à corrélation de fluorescence, couplé avec un système d'optique adaptative. Ces deux types de compétences sont déjà présents au sein de l'équipe pluridisciplinaire MOTIV, qui réunit opticiens et biophysiciens autour de thématiques de biomécanique.

 <p>P = 0 Pa P = 1 kPa</p> <p>● Ki-67 ● caspase-3 clived</p>	
<p>Division cellulaire (en bleu) et apoptose (en rouge) dans deux sphéroïdes multicellulaires cultivés respectivement sans contrainte mécanique (à gauche) et sous une pression de 1000 Pa (à droite). On observe que la pression affecte la mitose principalement au centre du sphéroïde. Laboratoire PCC.</p>	<p>Image de la matrice extracellulaire (en rouge) au sein d'un sphéroïde épais, obtenue par microscopie adaptative. Les corrections de l'optique permettent de s'affranchir des aberrations normalement présentes dans les tissus épais. Laboratoire LIPhy.</p>

¹ Butcher *et al.*. A tense situation: forcing tumour progression. *Nature reviews. Cancer* **9**, 108–22 (2009).

² Bissell, M. J. & Hines, W. C. Why don't we get more cancer? A proposed role of the microenvironment in restraining cancer progression. *Nature medicine* **17**, 320–9 (2011).

³ Hirschhaeuser, F. *et al.* Multicellular tumor spheroids: an underestimated tool is catching up again. *Journal of biotechnology* **148**, 3–15 (2010).

⁴ Helmlinger, G., Netti, P. & Lichtenbeld, H. Solid stress inhibits the growth of multicellular tumor spheroids. *Nature Biotechnology* **15**, 778 - 783 (1997)

⁵ Montel, F. *et al.* Isotropic stress reduces cell proliferation in tumor spheroids. *New Journal of Physics* **14**, 055008 (2012).

⁶ Montel, F. *et al.* Stress Clamp Experiments on Multicellular Tumor Spheroids. *Physical Review Letters* **107**, 1–4 (2011).

⁷ Charles-Edouard Leroux *et al.*, Correction of cell-induced optical aberrations in a fluorescence fluctuation microscope, *Opt. Lett.* **38**, 2401-2403 (2013)

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : IMNC (Imagerie et Modélisation en Neurobiologie et Cancérologie)

Adresse : Campus d'Orsay, bât. 440



Responsable(s) de Stage : C. Deroulers / M. Badoual / O. Seksek

Téléphone : 01 69 15 36 41
01 69 15 72 01

Email : deroulers ou badoual ou seksek
@imnc.in2p3.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : Physique en Île-de-France (ED 518)

Titre du stage : Migration de cellules tumorales : pionniers et invasion à plusieurs

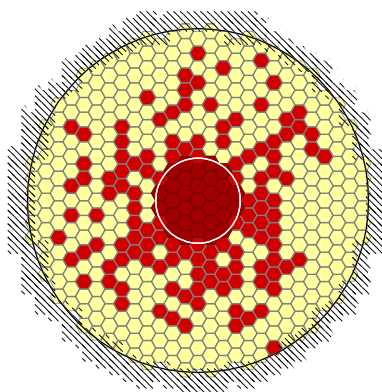
Résumé :

Dans un certain nombre de maladies tumorales, dont les gliomes, il semble que des cellules malignes quittent leur région d'origine et envahissent les tissus environnants, voire la circulation sanguine ou lymphatique. On a pu montrer que ces cellules « pionnières » sur le front d'invasion sont à très faible densité, ce qui les rend difficiles à détecter parmi les cellules saines, mais que leur présence ou leur absence après un traitement chirurgical est cruciale pour l'apparition de rechutes qui peuvent entraîner la mort du patient. Il est démontré cliniquement que la « qualité de l'exérèse » (c'est-à-dire la quantité de cellules tumorales laissées par le chirurgien après l'intervention), ou celle de la radiothérapie additionnelle, influe énormément sur les chances de survie à moyen et long terme.

Depuis une quinzaine d'années, des modèles mathématico-informatiques de tumeurs sont en cours de développement, avec l'espoir que, si ces modèles sont suffisamment adaptés au patient, ils pourront guider le geste chirurgical, prévoir les récurrences, prédire le traitement le plus adapté. Ils reposent généralement sur des équations aux dérivées partielles couplées et non linéaires pour des quantités telles que le nombre de cellules par millimètre cube, dans une approche de type « champ moyen » rendue nécessaire par le très grand nombre de cellules en jeu.

Le stage abordera, selon l'intérêt du candidat, l'un ou l'autre des problèmes suivants.

- 1) Les modèles de tumeurs actuels sont très peu capables de prédire à quelle distance de la lésion visible des cellules « pionnières » ont pu migrer, et des approches inspirées de la physique statistique des systèmes de particules en interaction devraient permettre de les compléter en répondant quantitativement à cette question pour guider le chirurgien. Le travail consistera en une combinaison de simulations de migration cellulaire et de calculs analytiques.
- 2) En collaboration avec l'équipe IBIV du laboratoire IMNC, des expériences de migration de cellules tumorales faisant intervenir une puis deux populations, dans des gels de densité variable, serviront à reproduire in vitro quelques caractéristiques de l'invasion tumorale. Pour interpréter ces expériences, il s'agira de construire un modèle mathématique qui prédit la répartition spatiale des cellules quand deux populations en interaction migrent ensemble. Les simulations montrent que des effets a priori surprenants peuvent apparaître.



« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Neurophysiologie et Nouvelles Microscopies
INSERM U603, CNRS UMR 8154

Adresse : Université Paris Descartes - UFR Biomédicale
45 rue des Saints Pères, 75006 Paris
<http://www.biomedicale.univ-paris5.fr/neurophysiologie/>

Responsable(s) de Stage : Benoît C. FORGET
Marc GUILLON

Téléphone : 01.42.86.21.51 **Email :** benoit.forget@parisdescartes.fr
marc.guillon@parisdescartes.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées :

Titre du stage : Imagerie de phase quantitative et tomographique appliquée à la biologie

Résumé :

Les échantillons biologiques sont souvent transparents et leur image en transmission est par conséquent peu contrastée. Les techniques à contraste de phase (Zernike, DIC...), convertissant les variations d'indice en variations d'intensité sont donc habituellement préférées.

Celles-ci procurent une information précieuse sur la morphologie des échantillons mais reste qualitative sur les contrastes d'indices optiques. L'imagerie quantitative de phase reste aujourd'hui un défi, surtout en milieux fortement diffusant, et dont l'enjeu est la mesure de l'activité cellulaire. Le but du projet proposé est de coupler les techniques d'imagerie quantitative de phase à des approches tomographiques afin de réaliser une cartographie 3D de l'indice de réfraction de milieux biologiques.

La tomographie est une technique d'imagerie dont le but est de reconstruire en volume la carte d'indice d'un objet à partir de mesures effectuées par tranche. Parmi les différentes implémentations, les techniques de projection comme la tomographie à rayon X (CT) ou tomographie optique par projection (OPT) sont très utilisées dans les domaines de l'imagerie médicale et biologique. Ces approches consistent à faire tourner la source autour de l'échantillon l'éclairant ainsi par une succession d'ondes planes puis à reconstruire mathématiquement le volume à partir de ces projections au moyen de la transformation Radon inverse. Des approches confocales sont également possibles puisqu'un faisceau focalisé est une combinaison d'ondes planes dans la limite de l'ouverture numérique. Si ces approches évitent les contraintes liées à la rotation de l'échantillon, elles nécessitent un balayage point par point pour reconstruire le volume.

Nous proposons d'utiliser la mise en forme de faisceau par un modulateur spatial de lumière (SLM) pour créer des champs d'illumination pseudo-aléatoires ce qui permet de combiner l'envoi en parallèle de plusieurs ondes planes et l'éclairage d'une zone étendue et de forme contrôlée (cette dernière pouvant même être ajustée en temps réel). L'utilisation de ce type de projections aléatoires s'avère souvent plus efficace en termes de nombre de projections nécessaires¹, moins sujet aux artefacts de reconstruction et plus robuste dans les milieux fortement diffusants. L'utilisation de « pseudo-speckles » invariant au cours de la propagation² doit permettre d'améliorer encore la robustesse à la diffusion.

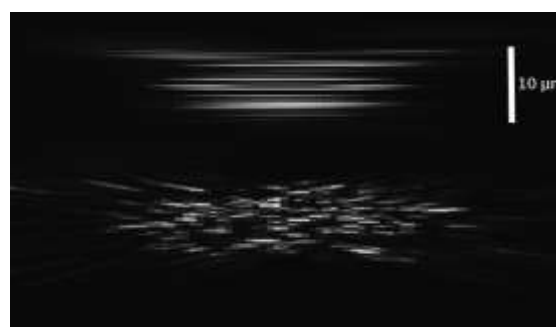


Figure 1 : En bas un « pseudo-speckle » couvrant une surface contrôlée ; en haut la même surface éclairée par un « pseudo-speckle » invariant au cours de la propagation

1. B. Sun et al., *Science* **340**, 844 (2013).

2. J. Durnin et al., *Phys. Rev. Lett.* **58**, 1499–1501 (1987).

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Département d'écologie de l'Institut Français de Pondichéry (IFP), Inde

Adresse : 11 St Louis Street, 605001 Pondicherry, India

Responsable(s) de Stage : Cédric Gaucherel

Téléphone : 91 (0) 413 233 4168

Email : cedric.gaucherel@ifpindia.org

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : ED SIBAGHE de Montpellier, ou ED SPIGA du CNAM-L2G au Mans.

Titre du stage : Formalisation d'un écosystème chaotique à 3 variables

Résumé :

L'écosystème est un objet complexe encore très mal compris. Le « mettre en équations » aiderait sûrement à mieux le comprendre. Les quelques tentatives de modélisations qui ont vu le jour dans ce sens se focalisent sur certaines composantes de l'écosystème (Solé & Bascompte 2006), comme les interactions entre espèces (e.g. modèles proie-prédateur), ou les cycles d'éléments (e.g. C, N ou H₂O). Avec des collègues écologues et mathématiciens, nous avons développé un système d'EDO sur la base de deux hypothèses maitresses : i) un écosystème n'est ni totalement vivant, ni totalement inerte, mais les deux à la fois (ce qui suppose que le système rassemble des variables biotiques et abiotiques) ; ii) un écosystème a très certainement un comportement chaotique (Solé & Bascompte 2006), avec une forte dépendance dans les conditions initiales de la simulation dans la plupart des cas (Gaucherel 2011).

L'objectif de ce stage consiste à étudier ce modèle, et d'autres proches, pour en comprendre les dynamiques (attracteurs, diagramme de bifurcation ...) et vérifier qu'elles soient en accord avec ce que l'on sait du fonctionnement écologique d'un écosystème. Le candidat s'appuiera sur la littérature autant que sur les nombreuses données des encadrants sur les écosystèmes terrestres tropicaux (Ibanez et al. 2013). Une telle tentative n'ayant jamais été explorée à notre connaissance, le candidat devra faire preuve d'initiative et d'originalité pour concevoir, développer, explorer puis valider ces modèles chaotiques suggérés.

Nous cherchons pour ce travail un mathématicien ou un écologue théoricien maîtrisant la théorie des systèmes dynamiques et du chaos. Le travail de stage devra être réalisé à l'Institut Français de Pondichéry (IFP, Inde), sur une durée minimale de 5-6 mois (voyage offert). Le rapport devra être rédigé en anglais, pour les besoins de la collaboration avec les collègues indiens.

Références

- Ibanez, T., Hély, C., M., Gaucherel, C., (2013). Inferring savanna-rainforest boundary dynamics from vegetation structure and composition: A case study in New Caledonia. Australian Journal of Botany, In Press.
- Gaucherel, C., (2011). Self-Organization of Patchy Landscapes: Hidden Optimization of Ecological Processes. Journal of Ecosystem & Ecography, 1(2), (<http://dx.doi.org/10.4172/2157-7625.1000105>).
- Solé, R.V. & Bascompte, J. (2006). Self-Organization in complex ecosystems, Princeton University Press.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : PMMH, ESPCI
Adresse : 10 rue Vauquelin, 75005 PARIS
Responsable(s) de Stage : Ramrio GODOY-DIANA / Benjamin THIRIA
Téléphone : 01 40 79 47 16 **Email :** ramiro @ pmmh.espci.fr
Site web : <http://www.pmmh.espci.fr/?Swimming-and-Flying>

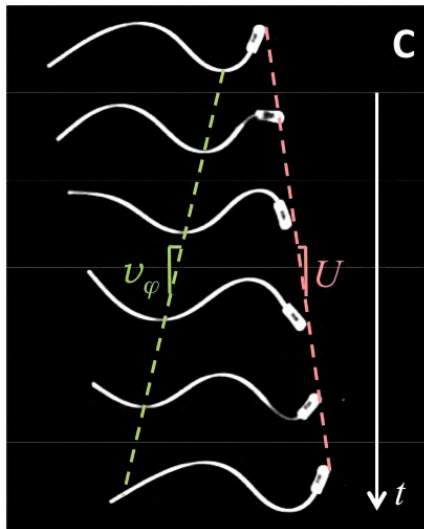
N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées :
ED "Physique en Ile de France" (nouvelle ED en 2014 née de la fusion des ED 107, 389 et 518)

Titre du stage : Nage anguilliforme en régime auto-propulsé*

Résumé :

Le mode de propulsion anguilliforme est probablement l'un des plus répandus dans le monde animal. Surtout observé dans les milieux fluides chez les animaux marins, la propulsion anguilliforme s'étend aussi aux milieux viscoélastiques, granulaires (par exemple chez les poissons de sable). Une autre particularité de ce mode de déplacement est qu'il se rencontre à toutes les échelles, des plus grands poissons (comme le requin), aux micro-organismes (bactéries, spermatozoïdes, etc.).

Les premiers travaux théoriques sur la nage anguilliforme ont vu le jour dans les années 1950-1960 grâce aux travaux de Taylor (1952), Gray & Hancock (1955), Machin (1958) et Lighthill (1960). Ces travaux pionniers ont permis de mettre en lumière deux types de mécanisme, dits théorie résistive et théorie réactive, distinguant les régimes visqueux (propres aux petites échelles) des régimes inertiels (propres aux grandes échelles). Il a ainsi été déterminé que la production de force pour les micro-organismes provenait essentiellement du frottement visqueux du corps dans la direction perpendiculaire au mouvement, alors qu'elle est produite par transfert de quantité de mouvement pour les animaux de plus grande taille. Dans tous les cas, des éléments déterminants pour la performance propulsive sont la vitesse de propagation de l'onde le long du corps du nageur (la vitesse de phase de l'onde), ainsi que la perte énergétique due à la force de traînée.



Nous avons mis au point une expérience permettant d'étudier ce type de nage dans le régime inertiel : En utilisant la déformation passive d'un corps élastique et un forçage oscillant localisé sur la tête du nageur, une onde typique de la nage anguilliforme se propage vers l'extrémité postérieure du nageur (cf. figure) produisant ainsi une force de propulsion [1]. Le sujet proposé démarrerait donc avec une campagne de mesure expérimentale avec ce montage pour étudier la performance de la nage en fonction des caractéristiques physiques du corps du nageur et des paramètres du forçage. Le projet de thèse pourra se développer à partir de cette première expérience sur plusieurs questions ouvertes relatives à la propulsion bio-inspirée. En plus de la partie expérimentale (mesures de cinématique du nageur, vélocimétrie par image des particules (PIV) pour caractériser l'écoulement,...), le travail se poursuivra avec une composante analytique/numérique. Quelques mots-clés : interaction fluide-structure, sillages propulsifs, traînée et propulsion.

Figure : Série de clichés d'un nageur anguilliforme (en fonction du temps du haut vers le bas) avec une représentation schématisée de la vitesse de phase de l'onde élastique se propageant de la tête vers la queue du nageur (v_ϕ) et de la vitesse de nage (U). (D'après Ramananarivo et al. 2013).

Références

[1] S. Ramananarivo, R. Godoy-Diana, B. Thiria (2013) Passive elastic mechanism to mimic fish-muscles action in anguilliform swimming. *Journal of the Royal Society Interface*, **10**, 20130667.

*D'autres sujets possibles autour de différents problèmes liés à la propulsion animale (cf. site web)

« PROPOSITION DE STAGE ET DE THESE »

Laboratoire : Centre de Recherche Paul-Pascal

Adresse : CNRS, 115 avenue Schweitzer, 33600 Pessac

Responsable de Stage : Eric Grelet

Téléphone / e-mail : 05.56.84.56.13 / grelet@crpp-bordeaux.cnrs.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : Sciences Physiques et de l'Ingénieur, Université Bordeaux 1 (ED209)

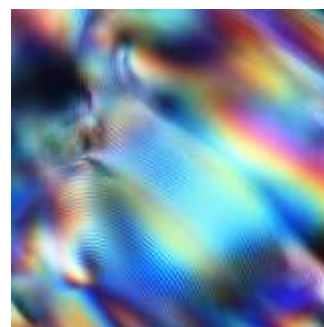
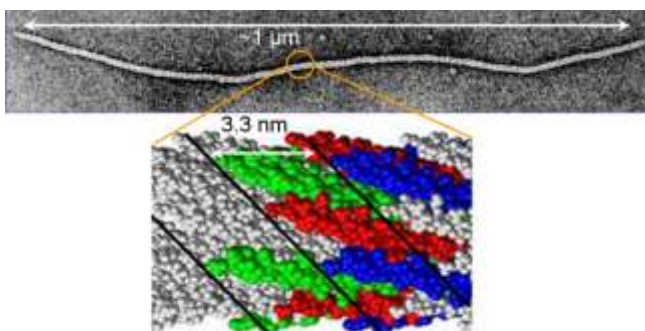
Titre du stage : **Auto-organisation de particules virales modèles : application à la régénération osseuse.**

Résumé :

L'enjeu du projet est l'étude de l'auto-assemblage de particules biologiques anisotropes, les bactériophages *M13*. Ces virus constituent, en raison de leur exceptionnelle uniformité en taille, un système *modèle* pour l'étude de l'auto-organisation de la matière condensée [1-3]. Leur grande monodispersité permet l'apparition d'une phase lamellaire, dont l'arrangement est observable directement en microscopie optique, ce que n'autorisent pas les nanoparticules ou polymères de synthèse connus actuellement [4]. 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 [1,3,5-7]. Des techniques de biologie moléculaire permettent également de produire des *mutants*, dont la longueur, la charge, et la flexibilité peuvent être modifiées [2,4].

Plus particulièrement, nous souhaitons étudier un phage spécifique développé par mutation génétique pour favoriser la régénération tissulaire et osseuse [8]. Ainsi, les protéines du manteau de ces phages modifiés expriment des peptides présentant une affinité spécifique avec le collagène (constituant principal des structures osseuses). Ces peptides forment des « patches » générant des interactions régio-localisées entre les phages conduisant à des auto-organisations originales. L'enjeu du projet sera d'étudier la structure et la dynamique de l'ensemble des auto-assemblages formés, avec une attention particulière portée sur l'arrangement lamellaire observé dans les composites phages-collagène.

Collaboration : University of California, Berkeley (USA).



Gauche : Virus *M13* observé en microscopie électronique et représentation schématique de sa surface protéinique. Droite : Exemple d'auto-organisation de particules virales en mésophase chirale torsadée observée en microscopie optique polarisante.

- [1] M.P. Lettinga, E. Grelet, *Phys. Rev. Lett.* **99**, 197802 (2007)
- [2] E. Grelet, S. Fraden, *Phys. Rev. Lett.* **90**, 198302 (2003)
- [3] F. Tombolato, A. Ferrarini, E. Grelet, *Phys. Rev. Lett.* **96**, 258302 (2006)
- [4] E. Pouget, E. Grelet, M.P. Lettinga, *Phys. Rev. E* **84**, 041704 (2011)
- [5] E. Grelet, *Phys. Rev. Lett.* **100**, 168301 (2008)
- [6] N. Puech, *et al. Phys. Rev. Lett.* **108**, 247801 (2012)
- [7] S. Naderi *et al. Phys. Rev. Lett.* **111**, 037801 (2013)
- [8] A. Merzlyak, S. Indrakanti, S.W. Lee, *Nano Letters* **9**, 846 (2009).

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire de Neurophotonique
<http://www.biomedicale.parisdescartes.fr/neurophotonics/>

Adresse : 45 rue des Saints Pères - 75006 Paris

Responsable(s) de Stage : Marc Guillon et Valentina Emiliani

Téléphone : 01 42 86 42 54

Email : marc.guillon@parisdescartes.fr

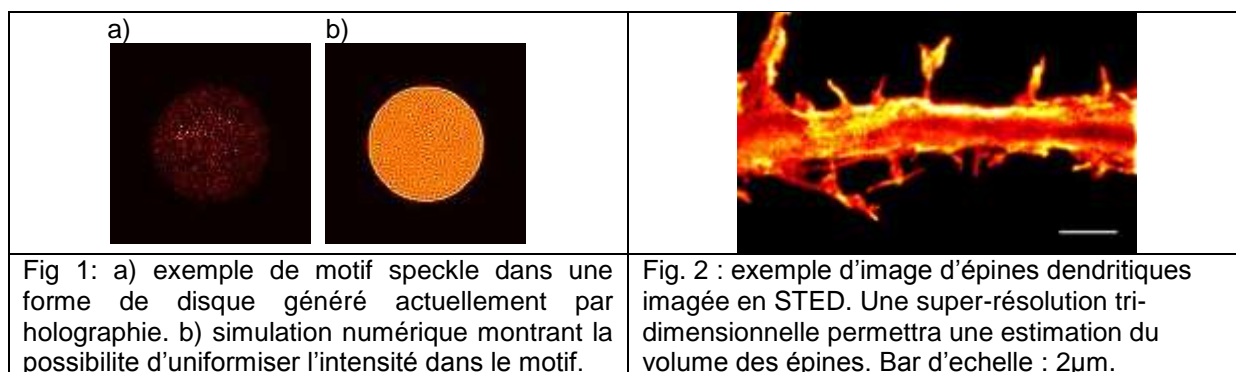
N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : ED518

Titre du stage : Mise en forme de faisceau pour la microscopie avancée

Résumé :

Ces dernières années la photo-stimulation de neurones par des techniques holographiques ont démontré que la microscopie permettait non-seulement d'observer, mais aussi d'agir localement sur les échantillons en y envoyant des profils d'illumination adaptés aux formes tridimensionnelles complexes des structures biologiques rencontrées [1,2]. Les neurones peuvent ainsi être stimulés par l'introduction génétique de protéines photo-sensibles (canaux ioniques, protéines fluorescentes, protéines cagées...) ou par l'utilisation de composés chimiques, dits « cagés », photo-activables. Ces techniques sont des outils à la fois sensibles et peu invasifs pour contrôler les mécanismes cellulaires. Les techniques holographiques digitales utilisent habituellement des modulateurs permettant de contrôler spatialement la phase d'un faisceau laser. L'énergie lumineuse du faisceau laser est alors intégralement transmise et peut donc être redirigée efficacement vers les zones d'intérêt de l'échantillon, en adaptant la forme du faisceau à la forme de la structure visée.

Le sujet proposé consiste à contrôler, en plus de la phase, l'amplitude du faisceau laser à l'aide d'un unique modulateur de phase. Cette approche permet d'avoir un contrôle complet sur le faisceau laser tout en conservant l'intégralité de l'énergie lumineuse. Il est prévu d'appliquer cette technique à différents projets dont la génération de motifs dénués de speckle (Fig. 1a & 1b) pour de l'imagerie sélective, et l'optimisation d'un microscope à super-résolution STED. Notre microscope STED permet actuellement d'étudier des structures dont l'échelle transverse est de l'ordre de 45nm [3] (Fig. 2). Ce projet permettra d'accéder à la super-résolution suivant la dimension axiale également.



- [1] S. Yang, E. Papagiakoumou, M. Guillon, V. de Sars, C.-M. Tang and V. Emiliani, *Three-dimensional holographic photostimulation of the dendritic arbor*, J. Neur. Eng. **8**, 046002 (2011).
[2] C. Lutz, T. S. Otis, V. de Sars, S. Charpak, D.A. DiGregorio and V. Emiliani, *Holographic photolysis of caged neurotransmitters*, Nat. Methods **5**, 821–7 (2008).
[3] M. Lauterbach, M. Guillon, A. Soltani and V. Emiliani, *STED microscope with spiral phase contrast*, Sci. Rep. **3**, 2050 (2013)

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire d'Optique et Biosciences

Adresse : Ecole Polytechnique – Palaiseau

Responsable(s) de Stage : François Hache

Téléphone : 01 69 33 50 39

Email : francois.hache@polytechnique.edu

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : ED447 (ED Ecole Polytechnique)

Titre du stage : Etude des changements de conformation dans des protéines et dans l'ADN par dichroïsme circulaire résolu en temps

Résumé :

Les **changements de conformation** jouent un rôle très important en biophysique, que ce soit lors du repliement des protéines ou lors des processus d'assemblage de brins d'ADN. Pour étudier les dynamiques ultrarapides de ces phénomènes, nous avons mis au point une expérience de **T-jump** qui consiste à élever la température d'une solution de molécules en quelques nanosecondes. Ce saut de température modifie l'équilibre thermodynamique des biomolécules en solution et nous suivons temporellement ce retour à l'équilibre en mesurant le **dichroïsme circulaire dans l'ultraviolet lointain** qui nous donne des informations sur la conformation des biomolécules. Le T-jump est assuré par un OPO ns pompé par un laser YAG tandis que la mesure de la conformation se fait par un laser Titane-Saphir femtoseconde quadruplé en fréquence dont on module la polarisation circulaire droite/gauche.

Nous appliquerons cette technique à plusieurs problèmes biologiques. D'une part, nous étudierons les premières étapes de **dénaturation** de polypeptides ou de protéines simples (bactérorhodopsine, collagène, ...). Ces mesures nous donneront accès aux étapes fondamentales de repliement des protéines et nous permettront de déterminer les paramètres thermodynamiques et cinétiques pertinents.

D'autre part, nous développerons, en collaboration avec des chercheurs du CEA, une étude de la stabilité des **G-quadruplexes d'ADN**. Ces structures complexes jouent un rôle physiologique important en particulier dans les télomères (terminaisons d'ADN) et de nombreuses études cherchent à mieux comprendre la structure de ces complexes. En particulier, l'utilisation de ligands comme agent stabilisant ouvre de nouvelles perspectives de thérapie anti-cancéreuse. En étudiant leur dynamique de dépliement en fonction des conditions (force ionique, pH, nature des cations), nous apporterons des informations nouvelles sur leur stabilité. Ces mesures seront corrélées avec des mesures de fluorescence transitoires. Nous étudierons également les interactions entre les G-quadruplexes et des ligands afin de mieux comprendre les paramètres influant sur la stabilisation des complexes.

Par ailleurs, profitant de l'interaction avec les biologistes du LOB, nous explorerons les propriétés statiques et dynamiques du dichroïsme circulaire dans des protéines étudiées dans le laboratoire (protéine halophile Hef, thymidilate synthase ThyX, facteur de transcription CooA) afin de proposer de nouveaux angles d'étude dans ces projets.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire Jean Perrin <http://www.labos.upmc.fr/ljp/>

Adresse : 4 place Jussieu, 75005 Paris. Tour 32/33

Responsable(s) de Stage : Philippe Thomen et Nelly Henry

Téléphone : 01.44.27.22.53 **Email :** philippe.thomen@upmc.fr,
nelly.henry@upmc.fr

Titre du stage : **Dynamique des biofilms bactériens**

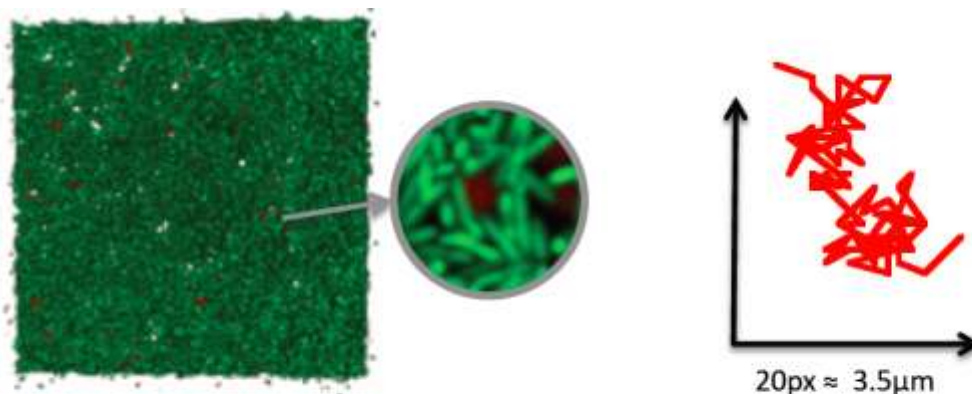
Contexte :

Nous développons au LJP (<http://www.labos.upmc.fr/ljp/>) une recherche dédiée à la *biophysique des biofilms bactériens*. Ces communautés de cellules adhérentes sont très répandues aussi bien dans l'environnement naturel que dans les milieux industriels ou hospitaliers. Elles forment des structures tridimensionnelles où les cellules, englobées dans une matrice extracellulaire, acquièrent des propriétés spécifiques et développent une communication intercellulaire complexe. Nous travaillons dans l'optique générale d'éclaircir les relations causales des propriétés physiques et physicochimiques de ces systèmes avec leurs propriétés biologiques. Nous travaillons donc au développement de nouveaux outils permettant de caractériser en parallèle *in situ* sur les systèmes vivants, les propriétés physiques — hydrodynamique locale, paramètres mécaniques, dynamiques de population — et les propriétés biologiques — expression de rapporteurs génétiques ciblés. Nous disposons de plusieurs modèles de biofilms mono-espèces mais nous venons également de lancer une nouvelle recherche sur un modèle multi-espèces dont nous visons à étudier l'adaptation, c'est à dire la réponse à des variations contrôlées de l'environnement de culture. L'adaptation peut se manifester par des changements biologiques comme l'émergence de mutants et par une réorganisation de la structure 3D du biofilm. Pour amorcer cette recherche, une étude préalable de la structure et de la dynamique interne du biofilm est essentielle. Dans ce cadre, nous voulons explorer les dynamiques locales sur la base d'une approche de PTM (Particle Tracking Microscopy).

Collaboration: Laboratoire MICALIS INRA Paris -Grignon

Sujet du stage de master :

Le stage consistera à développer une méthode de cartographie tridimensionnelle de la dynamique de particules micrométriques insérées dans les biofilms. Il s'agira d'optimiser les images obtenues, la stratégie d'acquisition des séquences de ces images et les macros d'analyse permettant de remonter aux informations dynamiques, soit par étude des déplacements quadratiques moyens, soit par des protocoles d'analyse de corrélation d'images. Les principales techniques à mettre en œuvre seront la microscopie de fluorescence et l'analyse d'image. Ce sujet de master est très ouvert sur la poursuite en thèse.



La figure montre à gauche, une image de fluorescence d'un biofilm bactérien (*Escherichia coli*) semé de micro-particules et à droite, un exemple de trajectoire d'une particule individuelle : l'étape initiale pour décrire la dynamique interne de ces matériaux.

Laboratoire : Physique et Mécanique des Milieux hétérogènes

Adresse : 10 rue Vauquelin 75005 Paris

Responsable(s) de Stage : Julien Heuvingh / Olivia du Roure

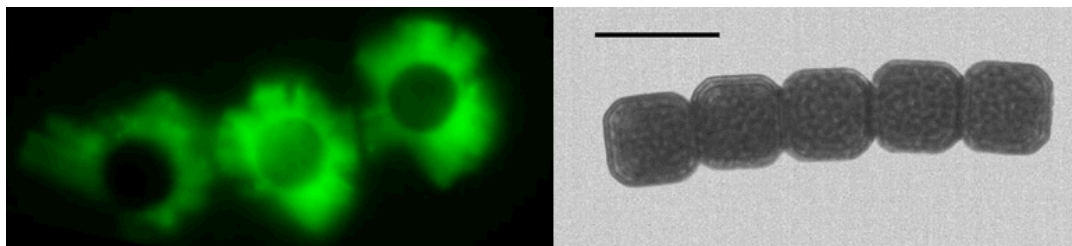
Téléphone : 01 0 79 47 08/ 19 **Email :** julien.heuvingh@espci.fr, olivia.duroure@espci.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : ED 107 / projet soumis à l'ANR

Titre du stage : Mécanique et régulation du cytosquelette d'actine.

Résumé : L'actine est l'une des plus importantes « briques » moléculaires de la cellule vivante. Cette protéine polymérise sous forme de filaments qui s'organisent en réseaux (cytosquelette) pour assurer la rigidité et la déformabilité des cellules. La polymérisation de l'actine génère des forces qui sont utilisées par la cellule pour se déplacer, lors du développement embryonnaire ou lors de la formation des métastases cancéreuses. Un grand nombre (~100) de protéines associées à l'actine régule la croissance, l'organisation et le désassemblage de ces réseaux. La compréhension de ces réseaux du cytosquelette est un enjeu majeur à l'interface de la physique et de la biologie.

Dans ce contexte, notre équipe a développé un nouveau système pour étudier la mécanique de réseaux d'actine reconstitués *in vitro*, basé sur des chaînes de colloïdes magnétiques de quelques microns. Un champ magnétique permet de déformer les gels d'actine reconstitués autour des billes en contrôlant la force dipolaire attractive entre elles. Cette technique est plus simple que les techniques précédemment utilisées et permet d'effectuer 100 fois plus de mesures dans un temps identique. Nous avons pu comparer la mécanique de réseaux d'actines d'architecture différente, et en tirer des conclusions sur l'origine de l'élasticité de ces réseaux (*Pujol et al. PNAS 2012*). Cette technique expérimentale bénéficie d'une amélioration importante grâce à la fabrication dans notre équipe de colloïdes magnétiques à bords plats en forme de cylindres ou de cubes (*Tavacoli et al. Soft Matter 2013*). Ceci va nous permettre de déformer des réseaux d'actine entre deux surfaces planes et d'étudier des réseaux en train de polymériser, ce qui était impossible avec des colloïdes sphériques.



A gauche: réseau d'actine (en vert) en croissance autour de disques ; à droite : colloïdes magnétiques cuboïdes (barre = 5 μ m)

Le sujet de ce stage / thèse est d'étudier par cette technique le couplage entre l'état mécanique des filaments et leur organisation par les protéines associées à l'actine. L'association de protéines régulatrices comme la tropomyosine à des réseaux plus ou moins déformés sera étudiée par des mesures de fluorescence et d'élasticité. La récente découverte d'une croissance accélérée du réseau lorsque les filaments individuels sont courbés a des conséquences importantes sur la migration des cellules face à un obstacle. Dans ce contexte, la vitesse de croissance du réseau en fonction de sa déformation et de son architecture pourra être étudiée de façon quantitative. Enfin, le désassemblage et le vieillissement du réseau en fonction de l'action de différentes protéines régulatrices seront étudiés par de mesures séquentielles d'élasticité et de plasticité. Ce sujet bénéficiera de la collaboration d'une équipe expérimentale (*G Romet Lemonne, LEBS*) travaillant sur des filaments uniques et d'un théoricien à même de relier les différentes échelles (*M Lenz, LPTMS*).

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire d'Hydrodynamique de l'Ecole Polytechnique (LadHyX)

Adresse : LadHyX-CNRS, Ecole Polytechnique
Route de Saclay, 91128 Palaiseau

Responsable(s) de Stage : Julien HUSSON

Téléphone : 01 69 33 52 82

Email : julien.husson@ladhyx.polytechnique.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées :

ED 447 : Ecole Doctorale de l'Ecole Polytechnique (EDX)

Titre du stage : Mécanique des interactions entre leucocytes et cellules endothéliales

Résumé :

Cette étude expérimentale visera à identifier et quantifier les changements mécaniques cellulaires pendant l'interaction entre globules blancs (leucocytes) et cellules endothéliales (cellules tapissant l'intérieur des vaisseaux sanguins sous forme d'une monocouche – l'endothélium). Le contexte sera l'étude du développement de l'athérosclérose.

La suite de ce stage pourra faire l'objet d'une demande de financement de thèse.

Les facteurs mécaniques (forces, rigidité cellulaire) mis en jeu dans l'adhésion des leucocytes et leur migration à travers l'endothélium sont mal compris, et des questions très basiques restent encore inexploitées : un leucocyte doit-il devenir plus mou pour pouvoir se déformer et transmigrer à travers l'endothélium ? Les cellules endothéliales doivent-elles aussi adapter leur rigidité pour laisser passer transmigrer le leucocyte ? Il a été montré que l'adhésion de certains types de leucocytes induit un changement rapide (dans la minute) de la rigidité des cellules endothéliales, mais la question est encore ouverte dans le cas d'autres leucocytes : les monocytes. Nous nous intéressons aux monocytes car leur transmigration en nombre anormalement élevé est un élément clé du développement de l'athérosclérose, une pathologie menant à la formation de lésions dans les parois artérielles. Ses complications (attaques cardiaques et cérébrales) sont la première cause de mort dans les pays occidentaux et la troisième au niveau mondial. L'objectif du stage est de comprendre (1) si des changements de rigidités ont lieu à la fois dans le monocyte et les cellules endothéliales pendant leur adhésion, (2) si ces changements régulent la transmigration, et (3) si le développement de l'athérosclérose est lié à une modification de cette régulation.

Pour répondre à ces questions l'étudiant(e) utilisera des techniques de microindentation (Fig. 1, <http://dai.ly/x158p85>) pour mesurer des rigidités de cellules endothéliales, et des micropipettes pour micromanipuler et mesurer les propriétés mécaniques d'un monocyte adhérent.



Figure 1. Image en microscopie optique d'une cellule endothéliale vue de profil et d'un microindenteur constitué d'une microfibre en verre avec à son extrémité une microbille de verre

Ce stage fera appel à des techniques de culture cellulaire, de microscopie optique et de micromanipulations. Il aura lieu au LadHyX à l'Ecole

Polytechnique, et sera supporté financièrement par la chaire AXA Ingénierie Cellulaire Cardiovasculaire (<http://chair-axa-cce.polytechnique.fr>). L'étudiant(e) n'aura pas nécessairement besoin d'avoir des notions avancées de mécanique ou de biologie cellulaires, mais sa forte motivation pour le sujet d'étude sera une condition nécessaire pour aborder les défis expérimentaux présentés par cette étude.

Stage de M2

2013-2014

Nom Laboratoire : Laboratoire de Physique des Solides (LPS)

Code d'identification CNRS : UMR 8502

Nom du ou des responsables du stage ou thèse : Impérator Marianne

e-mail : marianne.imperator@u-psud.fr

téléphone : 01 69 15 60 59

page web: <http://chercheurs.lps.u-psud.fr/imperator/>

Lieu du stage: LPS, Bat 510, Université Paris-Sud, Orsay

Stage uniquement : OUI

Stage pouvant déboucher sur une thèse : OUI

Financement proposé : OUI

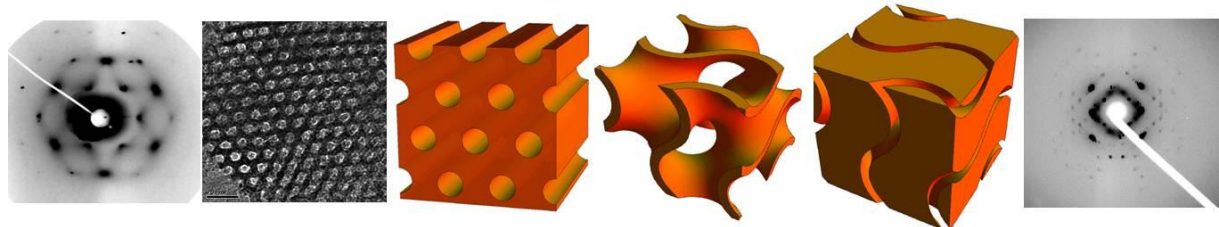
financement : bourse ministère attribuée sur concours

Auto-assemblage de matériaux nano-structurés

Résumé

Notre équipe étudie la formation de matériaux nano-structurés. Pour cela, nous utilisons divers systèmes issus de la matière molle, tels que des cristaux-liquides, des suspensions colloïdales de nanoparticules ou encore des émulsions. En utilisant le phénomène d'auto-assemblage en solution, des matériaux nano-structurés sont obtenus. L'ordre à grande portée de ces matériaux est analogue à celui dans les cristaux atomiques et moléculaires, mais à des échelles allant de quelques nanomètres jusqu'au micron. Ces matériaux ouvrent la voie à des propriétés physiques nouvelles, notamment optiques, qui peuvent être facilement modulées en contrôlant le type de structure formée lors de l'auto-assemblage.

L'étude de ces matériaux se réalise en utilisant la diffusion des rayons X (SAXS) ou des neutrons (SANS) aux petits angles, en utilisant très souvent les grands instruments (SOLEIL, ESRF, LLB, ILL).



Le stage, expérimental, portera sur des matériaux obtenus à partir d'émulsions huile/eau, dans lesquelles seront confinées des nanoparticules d'or. On cherchera à déterminer comment le confinement dans les gouttes d'émulsion modifie les interactions entre les nanoparticules, en modélisant des expériences de SAXS réalisées au laboratoire. Puis on étudiera l'auto-assemblage de matériaux nano-structurés dopés avec ces nanoparticules.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : PMMH (Physique et Mécanique des Milieux Hétérogènes), ESPCI
Adresse : 10 rue Vauquelin, 75 252, Paris Cédex 05
Responsable(s) de Stage : Evelyne KOLB, Pascal KUROWSKI
en collaboration avec Patricia GENET (BIOEMCO) , Christian HARTMANN (IRD)
Téléphone : 01-40-79-58-04 **Email :** evelyne.kolb@upmc.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : ED389

Titre du stage : Effet de la contrainte mécanique sur la morphogénèse racinaire

Résumé :

L'idée que la variété des processus de croissance et des formes rencontrées dans la nature peut être en partie le résultat de contraintes mécaniques est une problématique actuelle qui s'est d'abord développée dans le domaine des cellules animales. En comparaison pour le règne végétal, il existe relativement peu d'études consacrées à la morphogénèse sous contrainte mécanique et le développement des racines reste encore mystérieux. Pourtant la résistance à la pénétration d'un milieu influe directement sur la vitesse d'élongation de la racine et sur l'architecture racinaire. En retour, les effets mécaniques induits par la croissance des racines sont facilement visibles et restructurent notre environnement quotidien (fissuration et fractionnement des bétons, monuments, roches et réorganisation des sols). Les mécanismes en restent encore mal connus bien qu'ils intéressent plusieurs communautés scientifiques (physiciens et biologistes, mécaniciens, agronomes, écologues, géomorphologues, etc.).

Notre objectif est d'étudier le couplage entre la croissance racinaire et les contraintes mécaniques exercées par le milieu extérieur (par exemple un sol sableux modélisé par un milieu granulaire (Fig. 1)). Dans une étude précédente [Kolb et al, Plant and Soil 2012], nous avons mesuré la force radiale exercée par une jeune racine lorsqu'elle pénètre dans un milieu granulaire modèle, constitué de deux grains photoélastiques séparés par un interstice de taille contrôlable. Ce montage a permis une analyse en continu (sur plusieurs jours) de la dynamique de la croissance et de la morphologie d'une racine contrainte radialement et du développement des forces racinaires en réaction à cette contrainte par le biais de la photoélasticité (voir Fig.2).

Dans ce projet de stage/thèse, nous envisageons de contraindre mécaniquement la racine dans une géométrie tridimensionnelle. Nous proposons d'abord de modéliser l'élasticité locale du sol vue par la racine, par des tubes de rigidité variable dans lesquels la racine sera amenée à croître (Fig. 3). Ces tubes seront réalisés dans un polymère déformable de géométries et de propriétés mécaniques ajustables. A une échelle plus fine, nous identifierons également les déformations locales du tube (dont la surface externe a été préalablement mouchetée) via une technique dérivée de la PIV (Particule Image Velocimetry), ce qui devrait permettre de quantifier les contraintes mécaniques développées par la racine. Ces mesures macroscopiques de la morphologie racinaire en réponse à la contrainte mécanique exercée par le tube polymérique pourront être également complétées par des mesures à l'échelle tissulaire (PIV sur la racine pour accéder aux taux de déformation locaux, coupes microscopiques). Pour adapter au mieux la rigidité du tube dans lequel croît la racine, nous caractériserons les comportements elasto-visco-plastiques de la racine par différentes techniques (flexion, cycles de traction, relaxation, fluage). Comme les propriétés mécaniques sont très dépendantes des conditions hydriques, il sera nécessaire de réaliser ces expériences en environnement contrôlé (humidité et températures contrôlées ou ajustement de la pression de turgescence par immersion dans des solutions osmotiques contrôlées).



Fig. 1 : Croissance d'une racine dans un milieu granulaire modèle 2D. Le diamètre de la racine est comparable au diamètre des grains (quelques mm).

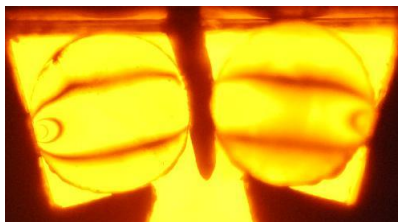


Fig. 2 : Croissance d'une racine de pois-chiche ($\varnothing \approx 1$ mm) entre deux disques photoélastiques. La croissance radiale de la racine conduit à une compression des disques voisins. La position et le nombre de franges noires apparaissant dans les disques éclairés en lumière monochromatique entre polariseurs circulaires permet de remonter à la force radiale exercée par la racine.

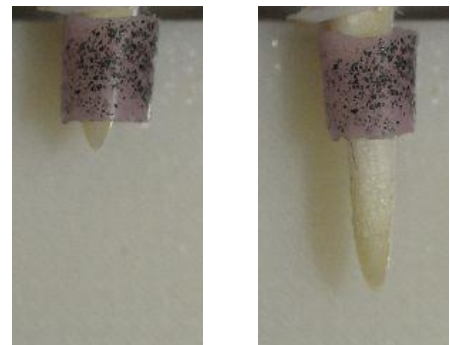


Fig. 3 : Croissance d'une racine de pois-chiche dans un tube élastique (gaine violette). La texture du tube est mouchetée pour des analyses éventuelles par PIV.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Physico-Chimie Théorique, UMR Gulliver 7083

Adresse : 10 rue Vauquelin, 75005 Paris

Responsable(s) de Stage : David LACOSTE

Téléphone : 0140795140 **Email :** david.lacoste@gmail.com

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : ED107

Titre du stage : Diffusion d'une protéine dans une membrane lipidique (stage théorique)

Résumé : Dans une expérience récente menée dans le groupe de P. Bassereau à l'Institut Curie la diffusion de protéines transmembranaires dans une membrane lipidique reconstituée a été mesurée par une analyse des trajectoires suivies par un quantum dot lié à la protéine. Les expériences montrent une dépendance différente du coefficient de diffusion avec la tension de membrane selon que les protéines courbent ou non localement la membrane. Avec l'équipe de P. Bassereau et avec des collègues de UC Santa Barbara, nous avons proposé récemment une interprétation de ces expériences au moyen d'un modèle qui permet d'accéder à la friction effective qui agit au niveau d'une protéine unique.

Nous nous proposons de poursuivre cette étude dans ce stage théorique qui pourrait éventuellement déboucher sur une thèse. Nous proposons notamment d'explorer les régimes dans lesquels soit la protéine soit la membrane sont mis hors d'équilibre par une action extérieure (force, champ électrique, gradients chimiques..) et les conséquences que cela pourrait avoir sur la dynamique effective de la protéine.

« Proposition de stage et de thèse »

Laboratoire : INSTITUT JACQUES MONOD, Université Paris DIDEROT et CNRS

Adresse : bâtiment Buffon, 15 rue Hélène Brion 75013 PARIS

Responsable de stage : LADOUX BENOIT

Téléphone : 01 57 27 80 71

Email : benoit.ladoux@univ-paris-diderot.fr

N° et Intitulé des Ecoles Doctorales de rattachement envisagées : 518 : Matière Condensée et Interfaces

Titre du stage : Controlling collective cell migration with physical cues

Collective cell movements give rise to complex changes in multicellular tissue structures, including epithelial regeneration, morphogenesis, and invasion of cell masses during cancer progression, and thus integrate both adhesion to the ECM and to neighboring cell. Mechanical external constraints have been shown to influence both *in vivo* and *in vitro* collective migration behaviours. During these processes, cell-cell contacts appear as a key player in the transmission of the mechanical information in the tissue. Previous studies focused either on the mechanical processes controlling adherens junctions at the molecular scale or on the emergence of large-scale coordinated movements. Even though both contribute to collective cell behaviors, there is a need to bridge the gap between molecular and mesoscopic mechanisms and to understand the relative contributions of mechanical and biochemical processes.



In this multidisciplinary project, we propose: 1) to determine how coordinated movements emerge during collective cell migration, 2) how collective dynamics, mesoscopic behaviors and tissue mechanics are affected by external mechanical properties and finally 3) to dissect how epithelial cell sheets mechanically integrate multiple adhesive cues to drive collective cell migration.

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 collective cell migration. Such approaches will be combined with molecular and cell biology techniques to probe the role of cell-cell junctions and cytoskeleton contractility.

References :

Vedula et al. PNAS 2012

Doxzen et al. Integrative Biol. 2013

Collaborations :

CT. Lim NUS, Singapore

A. Kabla Cambridge University

WJ. Nelson Stanford University

Benoit Ladoux

Cell Mechanics and Adhesion (with RM. Mège)

Université Paris Diderot, Institut Jacques Monod

Bâtiment Buffon, 15 rue Hélène Brion, 75205 Paris cedex 13

☎ +33 (0)1 57 27 80 71

📠 +33 (0)1 57 27 62 11

✉ benoit.ladoux@univ-paris-diderot.fr

<http://labs.mbi.nus.edu.sg/cam/>

« Proposition de stage et de thèse »

Laboratoire : INSTITUT JACQUES MONOD, Université Paris DIDEROT et CNRS

Adresse : bâtiment Buffon, 15 rue Hélène Brion 75013 PARIS

Responsable de stage : LADOUX BENOIT

Téléphone : 01 57 27 80 71

Email : benoit.ladoux@univ-paris-diderot.fr

N° et Intitulé des Ecoles Doctorales de rattachement envisagées : 518 : Matière Condensée et Interfaces

Titre du stage : Controlling cell polarization and migration by mechanical cues

Control of cell migration is crucial for morphogenesis, tissue stability and tumour progression. Cells sense mechanical cues to guide their migration. As opposed to passive materials, living cells actively respond to the mechanical stimuli of their environment through the transduction of mechanical information into biochemical signaling events. Various mechanisms operate over different time- and length scales to control mechanotransduction processes. The time needed by living cells to detect the mechanical properties of their environment and the distances over which the signal propagates and is integrated are not very well known.

In this project, our interdisciplinary approach will combine micromechanical tools that control substrate stiffness to understand single cell responses to rigidity. We want to: 1) design new microfabricated substrates made of stiffness gradients for cell migration studies; 2) understand the role of actin cytoskeleton as tension sensor and FAs in ensuring proper mechanical responses to substrate stiffness; 3) develop analytical and/or numerical modelling.

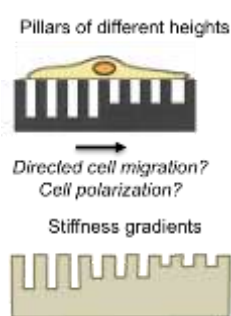


Figure 1: Substrates of various stiffnesses

We will seek to understand how cells locally and dynamically sample a range of ECM rigidities to guide directed migration toward stiff ECMs. We will develop original substrates with various stiffness gradients exhibiting areas of different stiffnesses such as step boundaries or gradients and focus on the “durotactic” responses of cells (Fig. 1). Substrates composed of flexible pillars of different heights will be used to control the apparent rigidity. The longer the pillars, the softer they are. Such devices will not only allow us to locally vary the stiffness of the substrate but also to measure the traction forces developed by adherent cells through these micro Force Sensing Arrays. Could we define an optimal range of stiffness to guide cell migration? How do cell response to rigidity gradients? How do cells sample ECM rigidity to induce a global migratory response?

References :

du Roure et al. PNAS 2005

Trichet et al. PNAS 2012

Collaborations :

R. Voituriez UPMC.

Benoit Ladoux

Cell Mechanics and Adhesion (with RM. Mège)

Université Paris Diderot, Institut Jacques Monod

Bâtiment Buffon, 15 rue Hélène Brion, 75205 Paris cedex 13

☎ +33 (0)1 57 27 80 71

📠 +33 (0)1 57 27 62 11

✉ benoit.ladoux@univ-paris-diderot.fr

🌐 <http://labs.mbi.nus.edu.sg/cam/>

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Department of Applied Mathematics and Theoretical Physics

Adresse : University of Cambridge, Royaume Uni

Responsable(s) de Stage : Eric Lauga - <http://www.damtp.cam.ac.uk/user/lauga/>

Téléphone:
+441223337031

Email: e.lauga@damtp.cam.ac.uk

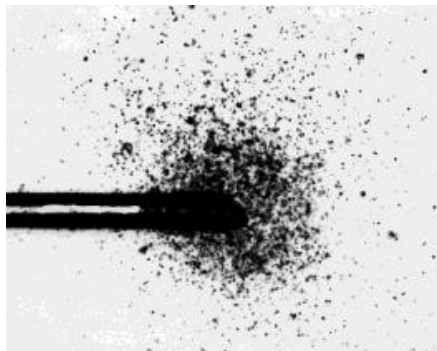
N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : Laboratoire étranger

Titre du stage : *Physical Hydrodynamics of Chemotaxis*

Résumé :

Many cells are able to move in a directed fashion in response to gradients of chemical species. This is true for bacteria, which are too small to sense spatial gradients, but are able to perform temporal sensing and use that information to bias their random motion toward chemically-preferred regions (see illustration on Figure below from Adler et. al, Science, 1969). This is also true for eukaryotic cells, such as animal cells, which are in this case much larger and can directly sense spatial gradients.

In this *stage de M2*, we propose to develop models for the physical hydrodynamics of chemotaxis, meaning models that rigorously take into account the presence of the surrounding viscous fluid in the dynamic response on the cells. This is a theory project. The ideal student will be at ease in concepts of statistical physics, will have basic knowledge of fluid dynamics, and will show a genuine interest for interdisciplinary problems at the boundary between physics and biology.



« PROPOSITION DE STAGE »

Laboratoire : UMR de génétique végétale, Ferme du Moulon, INRA/Université Paris-Sud/CNRS, Equipe Equipe Génétique Quantitative Fondamentale

Adresse : Ferme du Moulon , Gif-sur-Yvette 91190, France

Responsable(s) de Stage : Judith Legrand (biomathématiques/biostatistiques)
Delphine Sicard (génétique des populations)

Téléphone : 01 69 33 23 49

Email : Judith.legrand@moulon.inra.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : 426, Gènes, Génomes, Cellules

Titre du stage : Modélisation de la dynamique adaptative chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*

Résumé :

Le laboratoire d'accueil travaille sur l'adaptation de différents organismes à des changements environnementaux. L'adaptation ne dépend pas d'un seul caractère adaptatif mais d'une combinaison de caractères adaptatifs, aussi appelés traits d'histoire de vie. En raison des contraintes physiques et biologiques, ces caractères peuvent être corrélés négativement, ce qu'on appelle « trade-off ». L'étude des processus d'adaptation nécessite donc de prendre en compte un ensemble de traits d'histoire de vie et leurs interactions.

Dans ce contexte, nous étudions les traits d'histoire de vie chez la levure par des approches expérimentales et de modélisation mathématique. Nous avons montré qu'il existait toute une gamme de stratégies d'histoire de vie chez *Saccharomyces cerevisiae*, dont les deux extrêmes sont le type « cigale » (consommation rapide des ressources en fermentation, augmentation de la taille des cellules, faible taux de reproduction et capacité biotique) trouvé dans les milieux domestiqués riches en sucre, et le type « fourmi » (économie des ressources, petite taille de cellule, fort taux de reproduction et capacité biotique), trouvé dans des milieux naturels pauvres en sucre (Spor et al. 2008, 2009 ; Albertin et al. 2011). Par une expérience d'évolution au laboratoire, nous avons montré qu'une limitation en sucre conduisait effectivement à l'évolution vers une stratégie « fourmi » et l'abondance en sucre vers une stratégie « cigale » (Spor et al., 2013). Nous n'avons pas encore étudié par quels chemins et à quelle vitesse l'évolution se fait.

L'objectif du stage est de poursuivre le développement et d'exploiter un modèle mathématique de la dynamique évolutive de la levure *Saccharomyces cerevisiae* permettant d'étudier les trajectoires adaptatives de différentes souches à leur environnement et l'évolution des traits d'histoire de vie liés au métabolisme (taux de croissance en respiration et fermentation, capacité biotique...). Il s'agira de i) analyser les données recueillies lors d'une expérience d'évolution au laboratoire où les traits d'histoires de vie de plusieurs souches de *Saccharomyces cerevisiae* ont évolué dans quatre milieux différents ; ii) poursuivre la construction d'un modèle développé dans notre équipe et ajuster les paramètres du modèle aux données de l'évolution expérimentale conduite au laboratoire et aux données de la littérature ; iii) exploiter le modèle pour simuler des chemins adaptatifs et étudier l'impact des trade-offs sur la dynamique adaptative.

Le stage s'effectuera au sein d'une équipe pluridisciplinaire (biologie/mathématiques/physique) et le candidat retenu sera encadré par une biomathématicienne et une généticienne des populations. Le stage pourra se poursuivre par une thèse.

- Spor A., Wang S., Dillmann C., de Vienne D. & Sicard D. 2008. *PLoS one*. 3:2.
- Spor A., Nidelet T., Simon J, Bourgeois A., de Vienne D. & Sicard D. 2009. *BMC Evol. Biol.* 9:296.
- Albertin W., Marullo P., Aigle M., Dillmann C., de Vienne D. Bely M. & Sicard D. 2011. *AEM*, 77(8):2772-84.
- Spor A., Kvitek D.J., Nidelet T., Martin J., Legrand J. Dillmann C., Bourgeois A., de Vienne D., Sherlock G. & Sicard D. 2013. *Evolution* (accepté).

PROPOSITION DE STAGE

Laboratoire : Institut de Biologie du Développement de Marseille



Equipe : Approches Physiques de la Dynamique Cellulaire et de la Morphogenèse des Tissus.

Affiliation : UMR7288 CNRS & Aix-Marseille Université

Adresse : IBDM, Campus de Luminy, 13288 Marseille, Cedex 09

Responsable de stage ; Pierre-François Lenne

Téléphone : 04 91 26 93 65/06 17 90 30 40

Courriel : pierre-francois.lenne@univ-amu.fr

Site web : <http://www.ibdml.univ-mrs.fr/>

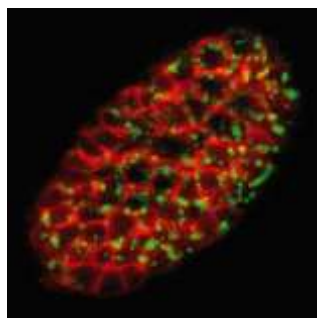
N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : Ecole doctorale des sciences de la vie et de la santé

Titre du stage :

Polarisation tissulaire: forme cellulaire et lecture des gradients biochimiques in vivo

Résumé du stage

Les organismes vivants acquièrent des axes de polarité durant la morphogenèse des tissus. A l'intérieur d'un tissu, l'information d'orientation cellulaire est souvent spécifiée par des gradients biochimiques (morphogènes) qui s'établissent au cours du développement. Si l'on connaît assez bien les molécules impliquées dans ces mécanismes de polarisation, on ignore en revanche comment ils se mettent en place (par diffusion, transport de molécules, dégradation) et comment ils sont lus à l'échelle cellulaire (interactions à la membrane en particulier et concentration des récepteurs). Pour aborder ces questions, nous étudions un processus de polarisation se produisant dans un organisme modèle, le nématode *C. elegans*, qui se prête bien à l'imagerie et aux études quantitatives biophysiques. Ce stage vise plus spécifiquement à comprendre le lien entre forme cellulaire et la lecture de gradients biochimiques. Nous étudierons comment les variations spatiales de concentration de morphogènes à l'échelle cellulaire induisent la polarisation à la membrane cellulaire. Ce stage est principalement expérimental et comprendra des observations de la dynamique cellulaire (par imagerie à feuille de lumière), des mesures de concentration et d'interactions moléculaires (par corrélation de fluorescence) et une analyse statistique des résultats. L'équipe d'accueil est interdisciplinaire et comprend des physiciens, biologistes et ingénieurs. Le stage pourra se poursuivre par une thèse.



« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire de Physique Théorique et Modèles Statistiques (LPTMS)

Adresse : 15 rue Georges Clémenceau 91405 Orsay cedex, France

Responsable(s) de Stage : Martin Lenz

Téléphone : 01 69 15 32 62 **Email :** martin.lenz@u-psud.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées :
ED 107 – École doctorale de Physique de la Région Parisienne

Titre du stage :
Contractilité des gels biologiques désordonnés : un nouveau paradigme
(stage théorique)

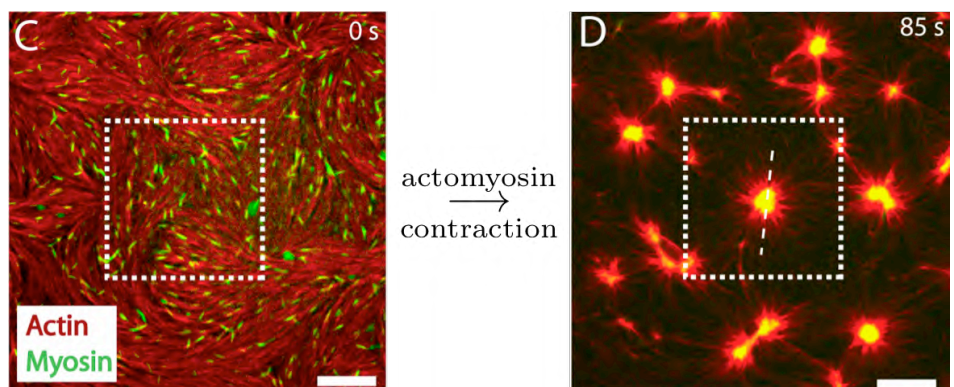
Résumé :

Les cellules vivantes se meuvent en grande partie grâce à l'interaction des filaments d'actine, sorte de câbles semi-rigides, et des moteurs moléculaires myosine, qui font coulisser ces câbles les uns par rapport aux autres. Un préjugé répandu inspiré de l'organisation de nos muscles voudrait que ce simple coulisement rende compte de tous les mouvements basés sur l'actine et la myosine. *Nous mettons en question l'application de ce dogme aux systèmes d'actine désordonnés, ouvrant la possibilité de redéfinir une part majeure de notre compréhension du mouvement cellulaire.*

Ce projet explore les mécanismes de contractilité des réseaux d'actomyosine désordonnés en forte interaction avec les groupes expérimentaux de Margaret Gardel (U. of Chicago) et Michael Murrell (U. of Wisconsin – Madison). Nos travaux précédents suggérant que la réponse mécanique non-linéaire (flambage) de l'actine engendre la contractilité, le ou la stagiaire développera une théorie de milieu continu nous permettant de transposer nos prédictions dans les conditions expérimentales. Il ou elle étendra ensuite ce formalisme hydrodynamique généralisé à des régimes de déformation fortement non-linéaires.

À plus long terme (thèse), le projet sera élargi à l'étude d'effets collectifs – nous soupçonnons en particulier que la présence de nombreux moteurs favorise la contractilité en poussant le réseau de filaments semi-rigides vers son point critique de percolation de rigidité.

Demandes de contact informel bienvenues – je suis à Paris les lundis pour discuter.



Expériences de contraction bidimensionnelle de M. Murrell & M. Gardel (Chicago)

« PROPOSITION DE STAGE »

Laboratoire:

NeuroSpin / UNIRS

Adresse :

CEA-Saclay Bât. 145,
91191 Gif-sur-Yvette Cedex

Responsable(s) de Stage :

Cécile Lerman

Téléphone :

01 69 08 97 40

Email : cecile.lerman@cea.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées :

STITS (Sciences et Technologie de l'Information, des Télécommunications et des Systèmes),
ED n° 422

Titre du stage :

Développement d'un protocole d'acquisition pour l'imagerie par Résonance Magnétique (IRM) du sodium à très hauts champs magnétiques.

Résumé :Contexte :

Les examens d'imagerie par Résonance Magnétique réalisés en routine clinique sont basés sur l'imagerie des protons (^1H) de l'eau. En effet, ce noyau est présent en très grande quantité dans le corps humain (composé d'environ 80% d'eau) et est le plus facilement détectable en raison de son signal important en IRM. Ce type d'imagerie permet une très bonne visualisation des différents tissus et organes et donc le diagnostic des nombreuses pathologies qui affectent le signal de ces protons. Néanmoins, d'autres noyaux fournissent également un signal IRM détectable et permettent d'obtenir des informations complémentaires, en particulier au niveau des processus métaboliques et cellulaires. Le sodium (^{23}Na) présent sous forme ionique (Na^+) à l'intérieur des cellules et dans le milieu extracellulaire joue en particulier un rôle très important dans la préservation de l'équilibre osmotique cellulaire. Par conséquent, l'imagerie du sodium et la mesure de sa concentration *in vivo* peuvent nous renseigner sur l'altération des cellules et donc la viabilité des tissus dans certaines pathologies. Le signal IRM fourni par le sodium aux champs magnétiques utilisés en routine clinique étant plus faible que celui du proton, il est intéressant de développer l'imagerie du sodium à très hauts champs magnétiques afin d'augmenter la sensibilité de détection de ce noyau.

Sujet du stage :

Les objectifs de ce stage sont les suivants:

- mise en place et validation d'un dispositif d'acquisition pour réaliser l'imagerie du sodium sur l'imageur 7T: réalisation d'objets tests («fantômes») et mesure des performances des antennes dédiées (en collaboration avec le laboratoire d'électronique) ;
- développement de séquences d'acquisition dédiées à l'imagerie du sodium et optimisation de leurs paramètres ;
- optimisation et évaluation des performances d'une séquence de calibration du champ magnétique statique (« *Bo shimming* ») utilisant le signal du sodium (étude de faisabilité) ;
- réalisation d'une série d'acquisitions sur fantômes de concentrations variables en sodium afin d'évaluer la sensibilité du protocole d'acquisition complet.

Conditions du stage :

Le stage s'effectuera à NeuroSpin, le centre de RMN à très hauts champs magnétiques du CEA, pour une durée de 4 à 6 mois. Le stagiaire travaillera au sein de l'équipe pluridisciplinaire de l'UNIRS, qui regroupe des spécialistes en électronique, méthodologie RMN, etc... Il bénéficiera des ressources techniques de NeuroSpin. En fonction des opportunités de financement, le stage devrait idéalement mener à une thèse.

Mécanique de l'appareil de Golgi : rôle de la matrice golgienne

Responsable de stage : Jean-Baptiste Manneville

(contact : Jean-Baptiste.Manneville@curie.fr)

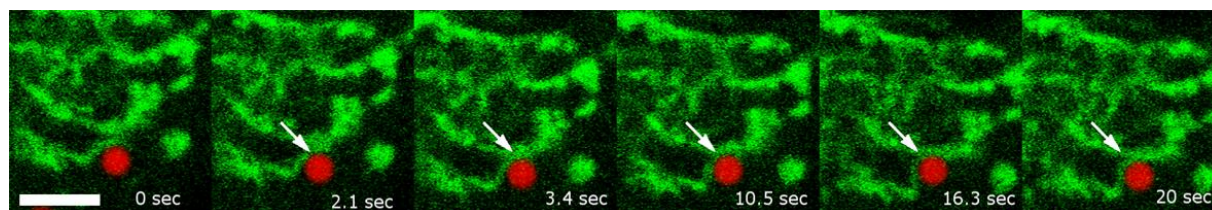
Groupe : 'Physique du transport intracellulaire', dir. Jean-Baptiste Manneville

Equipe : 'Mécanismes moléculaires du transport intracellulaire', dir. Bruno Goud

Laboratoire : 'Compartmentation et dynamique cellulaires', UMR 144 CNRS-Institut Curie

Depuis une vingtaine d'années, les études centrées sur les propriétés mécaniques de la membrane plasmique des cellules eucaryotes se sont multipliées. En revanche, la mécanique des membranes intracellulaires est encore très mal connue, alors qu'elle joue clairement un rôle central dans un grand nombre de processus cellulaires, notamment au cours du transport intracellulaire. Le transport intracellulaire repose sur la formation d'intermédiaires tubulo-vésiculaires qui transitent d'un compartiment de la cellule à un autre le long du cytosquelette. Des expériences *in vitro* ont permis de montrer que la courbure et la tension membranaires influencent le bourgeonnement de ces intermédiaires [1,2]. Une étude récente au laboratoire a mis évidence le rôle central de la contractilité acto-myosine dans la fission des intermédiaires de transport formés à partir de l'appareil de Golgi [3].

Pour mieux caractériser la physique des membranes intracellulaires, nous avons mis au point une technique originale basée sur la micromanipulation par pince optique de billes internalisées dans des cellules mammifères permettant l'application et la mesure d'une contrainte mécanique sur l'appareil de Golgi [4]. L'expression de protéines fluorescentes spécifiques de l'appareil de Golgi (GFP-Rab6 par exemple) permet de visualiser simultanément la déformation des membranes golgiennes (voir figure). Nous avons pu montrer que la contractilité acto-myosine contribue fortement à la rigidité de l'appareil de Golgi. En accord avec les expériences *in vitro* [1], l'application d'une contrainte mécanique diminue la formation des vésicules de transport à partir de l'appareil de Golgi [4].



Déformation de l'appareil de Golgi par application d'une contrainte mécanique. Les membranes de l'appareil de Golgi sont visualisées en vert (GFP-Rab6). La bille (en rouge) déplacée par une pince optique est indiquée par une flèche. Echelle : 5 μ m.

Le sujet de stage s'inscrit dans la continuité de ces travaux. Le/la candidat/e poursuivra l'étude sur l'appareil de Golgi pour mieux comprendre le rôle de la matrice golgienne dans la mécanique de l'appareil de Golgi. La matrice golgienne est composée de longues protéines permettant de maintenir l'architecture en citernes typique de l'appareil de Golgi. Ces 'cordes moléculaires' pourraient aussi participer au transport vésiculaire entre les citernes golgiennes. Le/la candidat/e quantifiera la contribution des protéines de matrice à la rigidité de l'appareil de Golgi en surexprimant ces protéines ou, au contraire, en diminuant leur expression par interférence ARN.

References :

[1] J.-B. Manneville et al. Proc Natl Acad Sci U S A 105 16946-16951 (2008)

[2] E. Ambroggio et al. EMBO J 29 292-303 (2010)

[3] S. Miserey-Lenkei et al. Nature Cell Biol 12 645-54 (2010)

[4] D. Guet et al. soumis à Current Biology

Mots-clés : Golgi, microscopie confocale, pince optique, microrhéologie, mécanique intracellulaire

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : UMR de Génétique Végétale
(Univ Paris-Sud/CNRS/INRA/AgroParisTech)

Adresse : Univ Paris-Sud à Orsay, Le Moulon

**Responsable(s)
de Stage :** Olivier MARTIN

Téléphone : 016933 2336

Email : olivier.martin@
moulon.inra.fr

N° et intitulé de l'école Doctorale de rattachement envisagée : 426 : Gènes, Génomes, Cellules

Titre du stage : *Réseaux Génétiques : modélisation, inférence et évolution*

Résumé :

Les êtres unicellulaires comme pluricellulaires répondent à leur environnement de façon active en reprogrammant l'expression de leur gènes. Les pluricellulaires ont une grande variété de tels programmes permettant la différenciation cellulaire et donc la formation de tissus spécialisés. Nous utilisons des approches de modélisation (analyse mathématique, simulation, inférence statistique) pour élucider les processus de régulation chez les procaryotes et eucaryotes. Les données biologiques sont obtenues par nos collaborateurs (génétique directe et inverse, cytologie, protéomique, transcriptomique, imagerie). Le sujet de stage et de thèse est « théorique », utilisant la physique statistique, la biophysique et l'informatique, mais il repose sur multiples expériences dont nous conduisons l'analyse détaillée. Les objectifs comprennent :

- ⤴ L'inférence des interactions entre les différents acteurs moléculaires, en particulier les aspects de spécificité entre les facteurs de transcription et leurs cibles.
- ⤴ La reconstruction d'un modèle dynamique de la régulation dans le système d'intérêt, intégrant les connaissances venant de différentes expériences dont chip-CHIP, SELEX, et RNAseq.
- ⤴ Explorer dans le modèle les conséquences de perturbations internes et externes pour extraire les prédictions les plus importantes concernant la biologie synthétique.
- ⤴ Avancer dans la compréhension de l'évolution des réseaux génétiques, modéliser les processus associés, et en tirer des principes évolutifs.

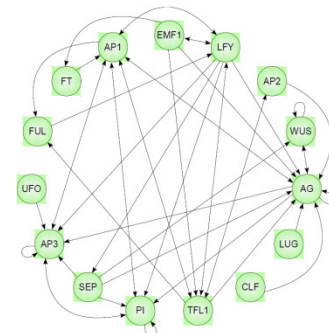
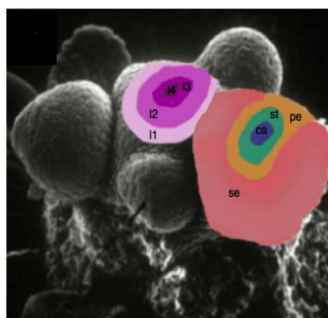
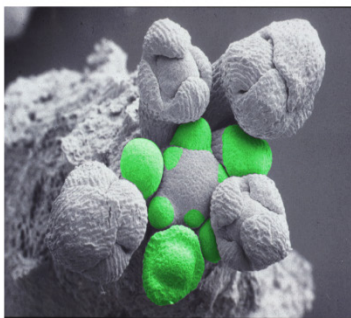
Mots clefs : régulation génétique, omiques, biologie synthétique.

Références :

Innovation and robustness in complex regulatory gene networks, (2007) S. Ciliberti, O.C. Martin and A. Wagner, PNAS 104, 13591.

Motifs emerge from function in model gene regulatory networks, (2011) Z. Burda, A. Krzywicki, O.C. Martin and M. Zagorski, PNAS 108(42) 17263.

Network function shapes network structure: the case of the Arabidopsis flower organ specification genetic network, A. Henry, F. Moneger, A. Samal and O.C. Martin, (2013) Mol. BioSyst., 9(7), 1735.



Illustrations : Méristème d'*Arabidopsis*, patrons d'expressions et interactions des gènes morphogénétiques.

Research projects 2013-2014 Master 1 / Master 2 / PhD

Nathalie Mignet / Bich-Thuy Doan / Berret Jean-François

Université Paris Descartes - Unité de Pharmacologie Chimique génétique et d'Imagerie

CNRS UMR8151/INSERM U1022, 4 avenue de l'Observatoire 75006 PARIS

Ecoles doctorale de rattachement : Physique et Systèmes Biologiques

E-mail: nathalie.mignet@univ-paris5.fr / bichthuy.doan@gmail.com

Web site - <http://www.msc.univ-paris-diderot.fr/~berret/>

Stealth magnetic nanoparticles for in vivo MRI applications

Magnetic nanoparticles, which can be used in a wide range of biological and biomedical applications (e.g., Magnetic Resonance Imaging (MRI), separations, hyperthermia), must be stabilized colloiddally in suspension under physiological conditions (Figure 1). The stabilization is obtained by the attachment of suitable polymers at the nanoparticle surfaces. These particles can, however, be coated rapidly with blood proteins when injected into the circulation system, and cleared quickly through, e.g., phagocytosis. We wish to control this opsonisation and clearing process through the development of innovative coatings, and to apply this technology to MRI imaging in vivo for molecular imaging where vectorized agents require initial stealth edifices.

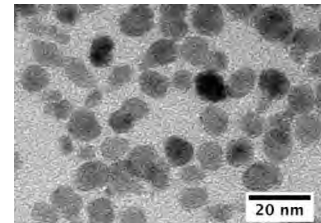


Figure 1: Transmission electron microscopy of iron oxide nanoparticles.

A series of copolymers comprising pendant poly(ethylene glycol) chains and chemical groups that strongly attach at the particle surface were synthesized by the start-up company Specific Polymers (<http://www.specificpolymers.fr/>) to this aim. Preliminary results have shown that iron oxide nanoparticles covered with these polymers are stealth, and do not interact with proteins or cells in vitro.

The objectives of the internship are:

- The coating and characterization of iron oxide in solution and in living environment including blood plasma.
- MRI experiments on mice models using coated particles in comparison with uncoated particles (Figure 2).
- The study of the biodistribution on healthy mice in the different organs.
- The study of the kinetics of uptake and the search of a correlation between the surface properties of the particles and the MRI biodistribution.

During the internship, the student (M2) will have the opportunity to learn different techniques of physical-chemistry and biophysics, including the spectroscopy, optical microscopy, preclinical MRI.

Recent References on this work

Q. L. Vuong, J.-F. Berret, J. Fresnais, Y. Gossuin and OI. Sandre

A Universal Scaling Law to Predict the Efficiency of Magnetic Nanoparticles as MRI T2-Contrast Agents *Advanced Health. Materials* 1:502-512 (2012)

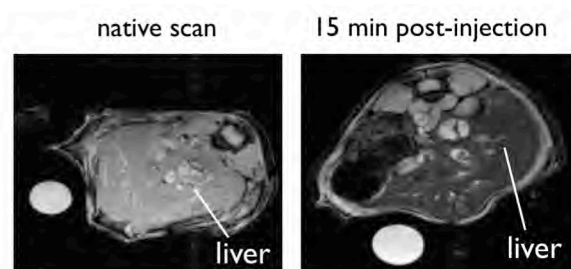


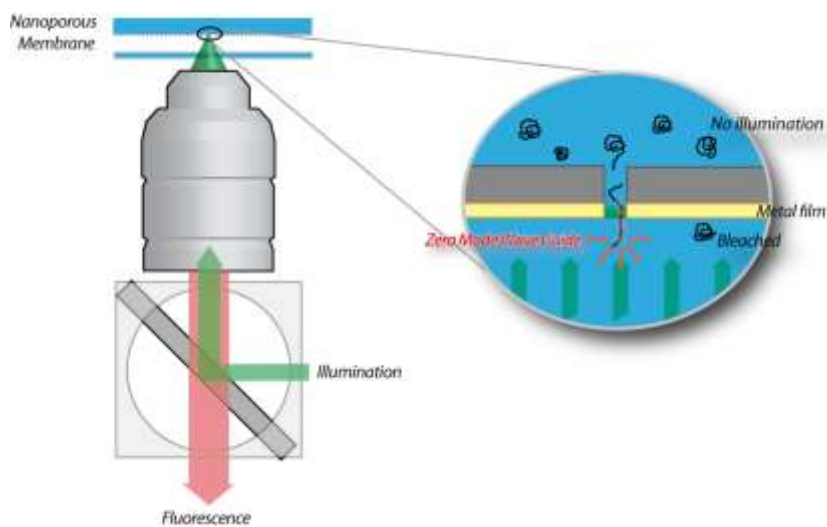
Figure 2: Magnetic Resonance Imaging Images from the liver of a mouse in vivo before and after injection of uncoated iron oxide nanoparticles. With PEG polymers on the particles, we anticipate that the opsonisation and a capture by the liver will be slowed-down.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Matière et Systèmes Complexes (UMR 7057)
Adresse : Bâtiment Condorcet - 10 rue Alice Domont et Léonie Duquet
75205 PARIS Cedex 13
Responsable(s) de Stage : Fabien Montel, Loïc Auvray, Catherine Dargemont
Téléphone : +33 (0)1 57 27 61 47 **Email :** fabien.montel@univ-paris.diderot.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : ED 518

Titre du stage : Transport de biomolécules à travers un nanopore fonctionnalisé



Résumé :

Le pore nucléaire est l'unique porte d'entrée et de sortie du noyau de nos cellules et sert de voie de passage sélective aux acides nucléiques et aux protéines échangées entre le noyau et le cytoplasme. Du fait de sa petite taille (entre 10 et 90 nm) et de sa grande complexité (plus de 80 protéines différentes), il est difficile d'étudier la dynamique de son fonctionnement par des méthodes directes. Nous proposons de construire un système biomimétique reproduisant les caractéristiques principales du pore nucléaire et d'utiliser des techniques optiques de molécules uniques pour contrôler, suivre le transport d'une biomolécule à travers un pore et mesurer les forces mises en jeu.

Le stage est pluridisciplinaire et comporte plusieurs volets :

- **Biologie :** initiation à la biologie du pore nucléaire, production d'ARN modèles et de protéines fluorescentes.
- **Microfabrication :** fonctionnalisation de membranes poreuses modèles imitant le pore nucléaire.
- **Physique et optique :** manipulation et suivi à haute vitesse à l'échelle de la molécule unique du transport de molécules d'ARN modèle à travers les pores biomimétiques en utilisant un dispositif expérimental original.

Ce projet se place dans le cadre d'une collaboration au sein du labex "Who Am I ?"

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire de BioChimie ESPCI
Adresse : 10 rue Vauquelin, 75005 Paris
Responsable(s) de Stage : Philippe Nghe
Téléphone : 0140794587 **Email :** Philippe.nghe@espci.fr

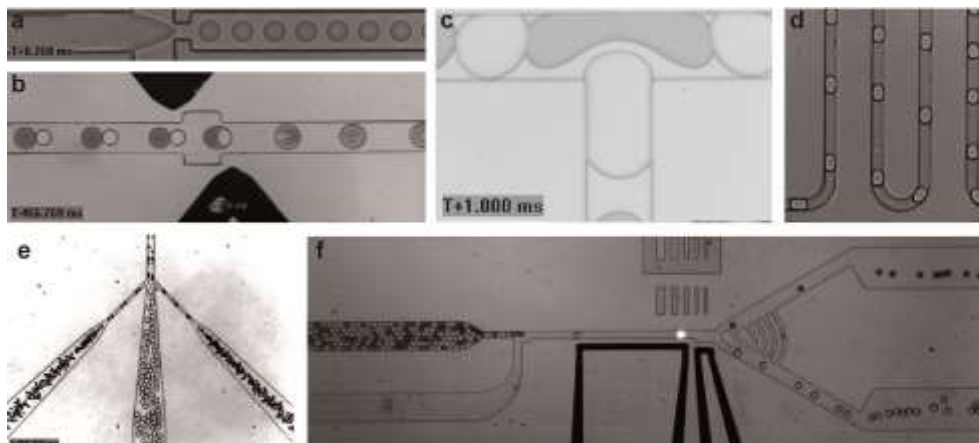
N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées :

Titre du stage : Evolution of RNA networks in RNA pico-reactors

Résumé : Experimental evolution is a blossoming field in which microfluidic screening technologies open a wealth of possibilities. By the controlled manipulation of pico-reactors at high frequencies (~1000 Hz), microfluidics allows to generate millions of mutants and measure their properties independently. The *Laboratoire de BioChimie* at ESPCI exploits this technology to explore the evolution of biological molecules, as well as pre-biotic scenarios for the transition from non-living to living matter.

We propose here to study the evolutionary mechanisms of RNA interaction networks *in vitro*. We will encapsulate variants of RNA networks in separate microfluidic droplets, each network being able to process information and perform catalytic activities. Using sequencing and fluorescence, we will simultaneously measure the genotype and phenotype of each variant, aiming to understand the link between the network structure and its evolutionary potential. This project is at the nexus of the “RNA world hypothesis” about the origins of life, the field of network evolution and synthetic biology.

Given the interdisciplinary nature of the project, the candidate should be highly motivated to learn the related aspects of molecular biology, microfluidics and/or quantitative interpretation of data depending on her/his background. Overall, the candidate should be especially interested in applying a physical approach to understanding biological phenomena, relying on a systematic dialog between quantitative experiments and modeling.



Microfluidic manipulation of pico-reactors (droplets of water in oil): (a) generation (b) fusion (c) splitting (d) incubation (e) sorting based on fluorescence. Check our online movies www.lbc.espci.fr.

Effet des phosphoinositides sur le remodelage des membranes : propriétés mécaniques et recrutement de protéines sensibles à la courbure membranaire

Responsable de stage : Laura Picas

(contact : Laura.Picas@curie.fr)

Groupe : 'Physique du transport intracellulaire', dir. Jean-Baptiste Manneville

Equipe : 'Mécanismes moléculaires du transport intracellulaire', dir. Bruno Goud

Laboratoire : 'Compartmentation et dynamique cellulaires', UMR 144 CNRS-Institut Curie

Contexte du projet

Les phosphoinositides (PIPs) forment une classe unique de phospholipides impliquée dans la régulation spatio-temporelle d'un grand nombre de processus intracellulaires et de pathologies. Aujourd'hui, grâce à l'apparition et le développement de nouveaux outils, nous commençons à mieux appréhender l'influence de ces lipides sur les différentes voies de signalisation cellulaire.

L'objectif de ce projet est d'étudier les propriétés mécaniques de cette famille de lipides ainsi que le recrutement de protéines, comme par exemple les protéines à domaine BAR dont la liaison aux membranes est sensible à la courbure, sur des membranes modèles contenant des PIPs. Le projet se focalisera en particulier sur les PIPs et protéines à domaine BAR liés à des processus localisés à la membrane plasmique des cellules.

Description du projet

Ce projet s'appuiera sur une approche *in vitro* utilisant des membranes modèles mimant la composition et la morphologie de la membrane plasmique cellulaire. Dans un premier temps, nous étudierons l'influence des PIPs sur les propriétés mécaniques des membranes. Pour cela, nous mesurons la force nécessaire pour extraire un tube lipidique d'une membrane modèle à l'aide d'une pince optique. Nous nous intéresserons plus particulièrement aux lipides PI(4,5)P₂ et PI5P. Nos résultats nous permettront de mieux comprendre le rôle des PIPs dans les processus de déformation et de fusion membranaires impliqués dans l'endocytose.

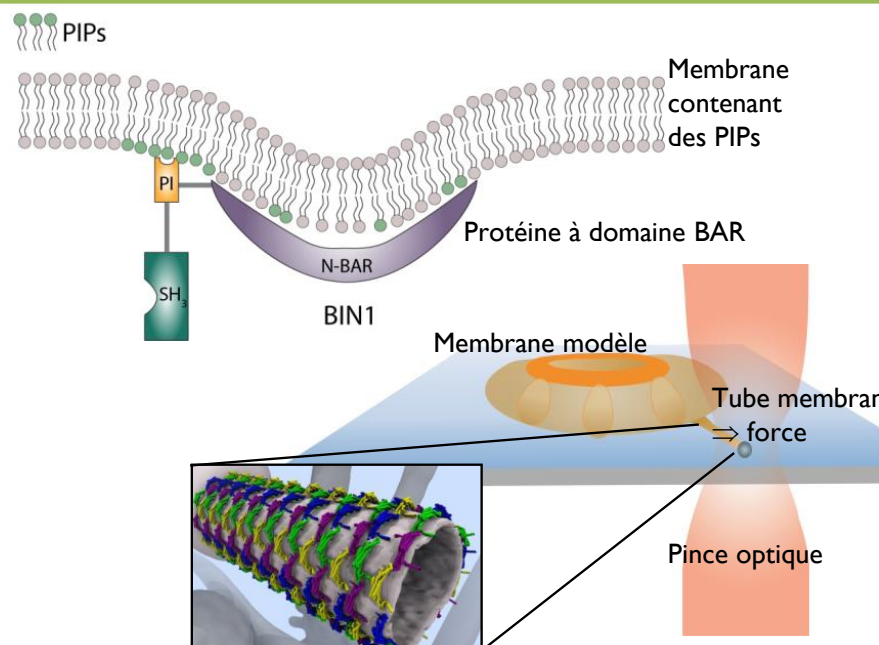
La deuxième partie du projet sera centrée sur l'étude de la liaison de protéines possédant un domaine BAR, domaine en forme de 'banane' sensible à la courbure membranaire mais aussi capable d'interagir spécifiquement avec les PIPs. *In cellulo*, la liaison de ce type de protéines à des membranes contenant des PIPs est cruciale pour assurer le transport intracellulaire. Nous utiliserons le système *in vitro* développé dans la première partie du projet pour mieux comprendre l'effet des protéines à domaine BAR sur les propriétés mécaniques des membranes contenant des PIPs.

Techniques et méthodes utilisées au cours du projet

- Micromanipulation par pince optique
- Microscopie confocale
- Préparation de membranes modèles
- Protéines recombinantes
- Traitement des données par Matlab

Mots clés

phosphoinositides, protéines à domaine BAR, pince optique, membranes modèles



An *in vitro* approach to study the fission of COPI-coated vesicles

Responsable de stage : Mathieu Pinot

(contact : Mathieu.Pinot@curie.fr)

Groupe : 'Physique du transport intracellulaire', dir. Jean-Baptiste Manneville

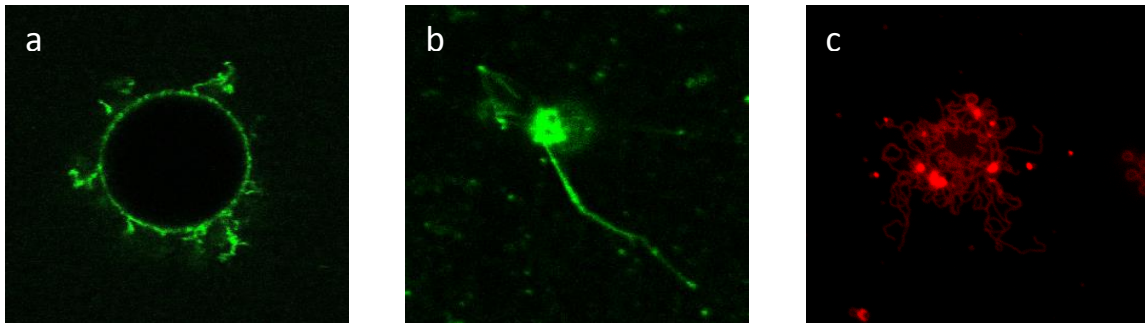
Equipe : 'Mécanismes moléculaires du transport intracellulaire', dir. Bruno Goud

Laboratoire : 'Compartmentation et dynamique cellulaires', UMR 144 CNRS-Institut Curie

Coat proteins orchestrate membrane budding and molecular sorting during the formation of transport intermediates. COPI vesicles are presents between the Golgi apparatus and the endoplasmic reticulum. The formation of a COPI vesicle proceeds in four steps: coat self-assembly, membrane deformation into a bud, fission of the coated vesicle and final disassembly of the coat to ensure recycling of coat components. Recently, it has been shown that deformation process could be explained by physical arguments such as membrane tension, membrane composition, membrane curvature and lipid packing [1,2].

We propose to use a minimal *in vitro* system to study the fission process. We will focus on the role of ArfGAP1, which has been proposed to act as a coat component during COPI budding, to mediate fission of COPI coated vesicles and to trigger coat disassembly after membrane fission. We will first study the role of specific lipids such as phosphatidic acid or diacylglycerols (DOG) that have been involved in fission *in vivo*. These lipids, which have a conical shape, are thought to generate lipid packing defects that could favor membrane binding of ArfGAP1 via the insertion of its ALPS motifs (see figure). We will then study the role of actin microfilaments in the fission process.

All these experiments combine biological and physical approaches. In particular, you will use giant liposomes (or GUVs). GUVs are typically 5-50 μm in diameter and well suited for optical microscopy (fluorescence confocal microscopy) and micromanipulation experiments (tube pulling with optical tweezers).



Deformation of GUVs containing DOGs by ALPS or ArfGAP1. (a) Deformation of a 20 μm -diameter GUV by the ALPS motifs of ArfGAP1 (green). (b) Mechanical deformation of a GUV by kinesin motors walking along microtubules and binding of ALPS. (c) Deformation of a GUV (red) by ArfGAP1.

References:

[1] J.-B. Manneville et al. Proc Natl Acad Sci U S A 105 16946-16951 (2008)

[2] E. Ambroggio et al. EMBO J 29 292-303 (2010)

Key words: fission, confocal microscopy, micromanipulation, tube pulling, optical tweezers, micropipette, ArfGAP1, COPI coat

An *in-vitro* approach to study the influence of membrane tension on protein binding

Responsable de stage : Mathieu Pinot

(contact : Mathieu.Pinot@curie.fr)

Groupe : 'Physique du transport intracellulaire', dir. Jean-Baptiste Manneville

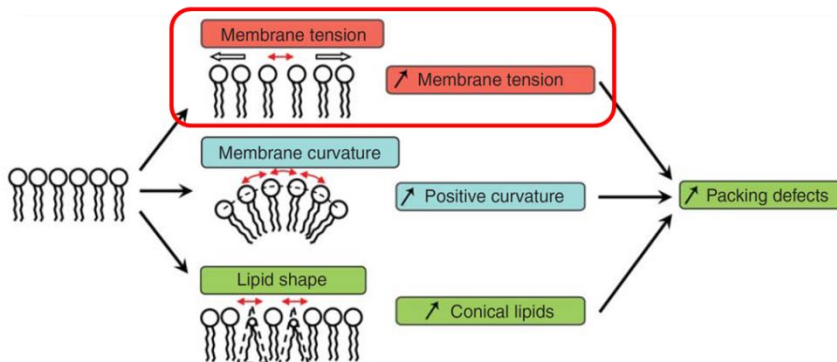
Equipe : 'Mécanismes moléculaires du transport intracellulaire', dir. Bruno Goud

Laboratoire : 'Compartmentation et dynamique cellulaires', UMR 144 CNRS-Institut Curie

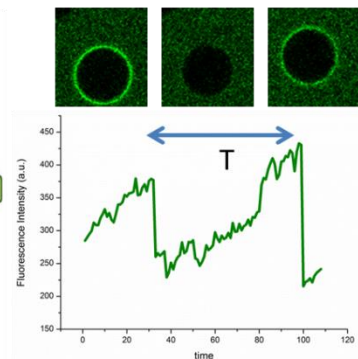
Coat proteins orchestrate membrane budding and molecular sorting during the formation of transport intermediates. The formation of coated vesicles proceeds in four steps: coat self-assembly, membrane budding, fission and coat disassembly to ensure the recycling of coat components. The assembly of coats may depend on many interactions such as electrostatic interactions or mechanical interactions. A key concept in the assembly process is the concept of lipid packing, which characterizes the spacing between lipid polar headgroups [1]. Intuitively, insertion of coat components should be facilitated if the membrane exhibits a high density of lipid packing defects. It has been previously shown that lipid packing defects can be generated by a high membrane curvature or by membrane containing cone-shaped lipids, such as diacylglycerols [2,3] (see figure). Lipid packing defects can be also created by a stretching force increasing membrane tension.

We propose to use a minimal *in vitro* approach to study the influence of membrane tension on the formation of lipid packing defects. In particular, we will measure the binding of ArfGAP1, a protein which has been proposed to act as a coat component during the budding of COPI vesicles from the Golgi apparatus to the endoplasmic reticulum. Our experimental approach is based on GUVs (giant unilamellar vesicles) and micromanipulation with micropipettes and optical tweezers. We will study the effect of a controlled tension on the binding of the ArfGAP1 lipid packing sensing (ALPS) motif. The main goal of the project is to find a threshold membrane tension above which binding occurs and to compare it with *in vivo* measurements.

A



B



Influence of membrane tension on the formation of lipid packing defects. (A) Processes generating lipid packing defects. (B) The binding of the ArfGAP1 ALPS motif on GUVs shows periodic oscillations.

References:

[1] J. Bigay and B. Antony Dev. Cell 23 886-895 (2012)

[2] J. Bigay et al. Nature 426 563-566 (2003)

[3] E. Ambroggio et al. EMBO J 29 292-303 (2010)

Key words: fission, confocal microscopy, micromanipulation, tube pulling, optical tweezers, micropipette, ArfGAP1, COPI coat

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire :
Cell Physics Lab.
(ISIS/IGBMC)

Adresse : Strasbourg

Responsable de Stage : Daniel Riveline

Téléphone : 03 68 85 51 64

Email riveline@unistra.fr

Titre du stage : Physical-chemistry of living matter

Résumé :

Cells are dynamic structures : they change their shapes within minutes and exhibit rich behaviors. The main actor controlling these morphogenesis is the *cytoskeleton* composed of crosslinked biopolymers under high dynamics. It can be engineered *in vivo* and *in vitro* and these manipulations have open novel and rigorous approaches at the Interface between Physics, Chemistry and Biology with new interaction rules to be unraveled.

These phenomena result from physical mechanisms which are out-of-equilibrium : the hydrolysis of ATP/GTP provides energy to the cytoskeleton which can undergo important remodeling. The system does not have time to undergo relaxation, while new energies are provided. Altogether, a new physical framework is currently emerging to explain these cellular events, while testing new models inspired from other physical systems.

The PhD proposal will consist in characterizing phenomena associated with these **active gels** behaviors experimentally. It will involve cell biology, chemistry and physics (experiments and theories), and close interactions with an international network in this interdisciplinary field. The topics will be adapted to the background and tastes of the candidate.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire
Interdisciplinaire

Adresse : Grenoble

Responsable de Stage : Olivier Rivoire

Téléphone : 04 76 51 47 64

Email : olivier.rivoire@ujf-grenoble.fr

Ecoles doctorale de rattachement envisagée : Ecole Doctorale de Physique de Grenoble

Titre : Physique statistique des systèmes vivants

Résumé :

La matière vivante se compose de nombreux éléments en interaction: acides aminés dans les protéines, gènes dans les génomes,... Son étude se prête donc naturellement aux outils de la physique statistique. Ses propriétés la distinguent cependant des systèmes auxquels la physique nous a habitués: la matière vivante n'est ni homogène comme un fluide, ni régulière comme un cristal, ni non plus désordonnée comme un verre, mais elle présente une organisation qui lui est propre, et qui est en relation avec sa "fonction". Cette notion de fonction n'a pas d'équivalent en physique, et s'explique par l'évolution darwinienne auxquels les organismes vivants sont sujets.

Notre recherche vise à développer une physique statistique de la matière vivante pour décrire et expliquer ses propriétés issues de l'évolution. Elle s'articule autour de trois approches complémentaires:

(1) La caractérisation de l'organisation des protéines et des génomes, par analyse statistique de séquences.

(2) L'étude des principes et implications des processus évolutifs, par des modèles analytiques et numériques.

(3) La mise au point et l'analyse d'expériences d'évolution moléculaire, en collaboration avec des expérimentateurs.

Ces approches conduisent à plusieurs problèmes théoriques pouvant faire l'objet d'un stage de master et/ou d'une thèse. De bonnes bases en physique statistique sont pour cela nécessaires, ainsi qu'une curiosité pour les questions de biologie, mais aucune connaissance préalable dans ce domaine n'est requise.

Références :

O. Rivoire, S. Leibler, *The value of information for populations in varying environments*. J. Stat. Phys. 142: 1124 (2011). (<http://arxiv.org/pdf/1010.5092.pdf>)

O. Rivoire, *Elements of coevolution in biological sequences*. Phys. Rev. Lett. 110, 178102 (2013). (<http://arxiv.org/pdf/1212.3205.pdf>)

I. Junier, O. Rivoire, *Synteny in bacterial genomes: inference, organization and evolution*. Preprint (2013). (<http://arxiv.org/pdf/1307.4291.pdf>)

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire Jean Perrin
Adresse : Tour 32 5^{ème} étage, 4 place Jussieu, 75005 Paris
Responsable(s) de Stage : Lydia Robert et Jérôme Robert
Téléphone : 0144274706 **Email :** lydia.robert@upmc.fr,
jerome.robert1@upmc.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : ED 389

Titre du stage : Variabilité phénotypique et cycle cellulaire chez les bactéries

Résumé :

La nature stochastique des processus biochimiques impliqués dans l'expression des gènes introduit de la variabilité dans le phénotype d'individus génétiquement identiques¹. Nous nous intéressons aux causes moléculaires de cette variabilité ainsi qu'à ses conséquences évolutives.

Nous cherchons également à comprendre comment les différentes étapes du cycle cellulaire de la bactérie sont coordonnées. En particulier nous cherchons à identifier les mécanismes moléculaires responsables de la coordination entre croissance et division.

Nous utilisons comme organisme modèle les bactéries *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* et nous développons plusieurs axes de recherche parmi lesquels des étudiant(e)s peuvent choisir de s'impliquer.

- **Dynamique de l'expression des gènes chez *B. subtilis* :**

De nombreux travaux théoriques tentent de modéliser le processus stochastique d'expression génétique¹. La plupart des modèles introduisent des processus de Poisson pour modéliser les différentes étapes de transcription et de traduction. Certaines données expérimentales ne confortent pas ce choix mais la dynamique d'expression d'un gène n'a encore jamais été précisément caractérisée à l'échelle d'une cellule en conditions contrôlées. Nous proposons donc d'effectuer des mesures quantitatives d'expression d'un gène au cours du temps sur des cellules uniques en cours de croissance. Pour cela, nous utiliserons un dispositif microfluidique permettant de cultiver les bactéries en conditions contrôlées et compatible avec leur observation microscopique² (fig 1a et b). Nous suivrons en microscopie en temps réel la production d'une protéine fluorescente (fig 1c) et tenterons de lier l'intensité des fluctuations de fluorescence et leur échelle de temps aux taux de transcription et de traduction ainsi qu'au taux de croissance des cellules.

- **Distribution du nombre de copies de plasmides chez *E. coli* :**

Les plasmides sont des molécules d'ADN extra-chromosomiques qui peuvent porter des gènes de résistance aux antibiotiques. Nous étudions comment ces molécules sont réparties dans une population monoclonale de bactéries et comment cette répartition influe sur la capacité d'une population à résister à un traitement antibiotique.

Nous avons modifié des plasmides pour incorporer un gène codant pour une protéine fluorescente. L'intensité de fluorescence d'une bactérie est alors directement reliée au nombre de copie de plasmides qu'elle contient. Nous mesurons ensuite la fluorescence d'un grand nombre de cellules grâce à un montage de type F.A.C.S., réalisé à partir d'un microscope et d'un dispositif microfluidique. Nous avons mesuré avec ce montage la valeur moyenne et

l'écart type du nombre de copies de plasmide par cellule dans une population bactérienne³ (fig 1d). Les plasmides codent également pour une résistance aux antibiotiques. Nous souhaitons mesurer l'effet de dose d'antibiotique sur les distributions du nombre de copie de plasmides.

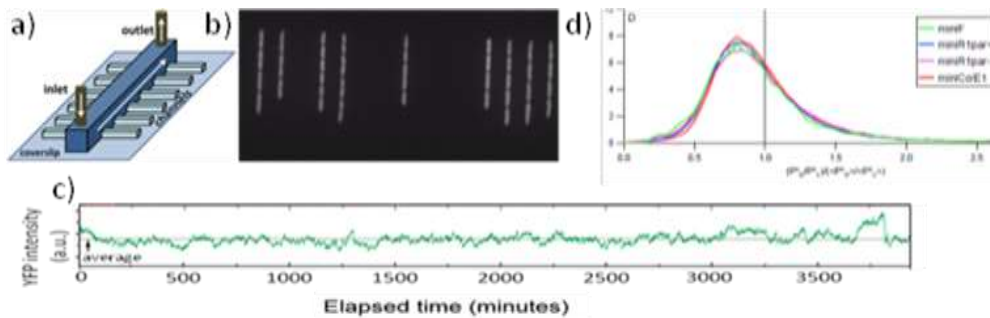


Figure 1: a) Dispositif microfluidique pour l'observation microscopique de bactéries en croissance; b) Bactéries *E. coli* exprimant la Yellow Fluorescent Protein (YFP) dans le dispositif microfluidique; c) suivi de l'expression de la YFP; d) distribution du nombre de copies pour différents plasmides chez *E. coli*

- **Coordination entre croissance et division chez la bactérie**

La plupart des bactéries se reproduisent par fission binaire : la cellule bactérienne croît et se divise en deux cellules de taille identique. Le cycle cellulaire des bactéries est étudié depuis très longtemps et pourtant comment les bactéries coordonnent la croissance et la division reste une question ouverte⁴. Nous avons récemment montré que la probabilité instantanée de division d'une cellule d'*Escherichia coli* dépend de sa taille. La cellule doit donc disposer de mécanismes moléculaires permettant une estimation de sa taille et un transfert de cette information à la machinerie de division.

La division cellulaire est assurée par la polymérisation de la protéine FtsZ qui crée un anneau constricteur de la paroi cellulaire lors de la division (appelé Z ring). Chez les bactéries modèles *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis*, deux mécanismes moléculaires contrôlant la polymérisation de FtsZ ont été identifiés : le système Min et l'effet de Nucleoid Occlusion (NO)^{5,6}. Ces deux mécanismes permettent la localisation du septum au milieu de la cellule. De plus, il est communément supposé que ces systèmes fixent le timing de la division. Nous cherchons donc à caractériser de façon quantitative le rôle de ces deux systèmes dans le contrôle spatial et temporel de la division. On cherche en particulier à déterminer si l'un de ces systèmes est à l'origine de la coordination entre croissance et division (*i.e.* permet l'estimation de la taille de la cellule et la modulation par la taille de la probabilité de division). On utilisera des mutants de *B. subtilis* et *E. coli* dans lesquels l'un ou les deux systèmes sont supprimés et on suivra par microscopie en temps réel la croissance de cellules uniques au sein de microcolonies. A partir de ces données on pourra estimer la dépendance en taille du taux de division et on pourra alors déterminer si l'un de ces systèmes est nécessaire pour coordonner croissance et division.

1. Kaern, M., Elston, T.C., Blake, W.J. & Collins, J.J. *Nat. Rev. Genet* **6**, 451-464 (2005)
2. Wang, P., Robert L. et al. *Curr. Biol* **20**, 1099-1103 (2010)
3. Wong Ng, J., Chatenay, D., Robert, J. & Poirier, M.G. *Phys Rev E* **81**, 011909 (2010)
4. Wang DJ and Levin PA (2009) Metabolism, cell growth and the bacterial cell cycle. *Nature Reviews Microbiology* 7(11):822-827
5. Wu LJ, Errington J (2011) Nucleoid occlusion and bacterial cell division. *Nature Reviews Microbiology* 10:8-12.
6. Lutkenhaus J (2007) Assembly dynamics of the bacterial minCDE system and spatial regulation of the Z ring. *Annual Review of Biochemistry* 76:539-62.

PROPOSITION DE STAGE ET DE THESE

Couplage mécano-chimique dans l'assemblage des filaments d'actine

Responsable(s) de Stage : Guillaume Romet-Lemonne et Antoine Jégou

Laboratoire : Laboratoire d'Enzymologie et Biochimie Structurales (LEBS)
LEBS, CNRS, bâtiment 34, avenue de la Terrasse, 91190 Gif-sur-Yvette

E-mail : romet@lebs.cnrs-gif.fr / jegou@lebs.cnrs-gif.fr

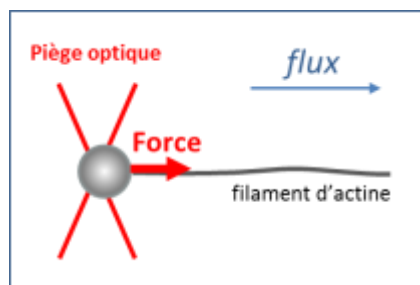
Téléphone : 01.69.82.35.09

Mots-clés : *dynamique de l'actine, protéines régulatrices, filament unique, microscopie, microfluidique, piège optique, couplage mécano-chimique.*

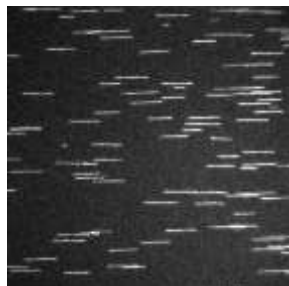
Résumé :

Dans les cellules vivantes, divers réseaux de filaments d'actine génèrent des forces mécaniques. Ces réseaux sont dynamiques, et régulés par un grand nombre de protéines qui interagissent avec les filaments d'actine (par exemple pour les assembler, les connecter, les stabiliser, ou les fragmenter) ainsi que par les forces mécaniques qu'ils subissent. Comprendre la régulation coordonnée des différents réseaux d'actine nécessite des approches complémentaires de physique, chimie et biologie.

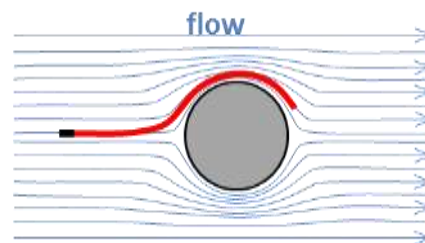
Depuis quelques années, des outils issus des sciences physiques permettent d'observer directement ces mécanismes, à l'échelle de la molécule unique. Cela donne un éclairage nouveau sur les interactions entre protéines, et permet d'étudier plus en détail le rôle que joue leur environnement mécanique.



Combinaison d'écoulement microfluidique et d'un piège optique pour appliquer et mesurer une force sur le point d'ancrage d'un filament d'actine.



Filaments d'actine, alignés par le flux dans une cellule microfluidique (observés en microscopie de fluorescence).



Des obstacles (ici : une micro-colonne) positionnés dans la microchambre dévient les lignes de flux et appliquent une courbure au filament (en rouge).

Pour manipuler et observer des filaments individuels, le laboratoire dispose de montages de **pincés optiques** et de **microscopie à onde évanescente (TIRF)**, récemment complétés par une nouvelle **approche microfluidique**. Nous avons montré que cette technique permettait d'obtenir des mesures très précises à l'échelle des filaments individuels (Jégou et al., *PLoS Biol.* 2011, Niedermayer et al. *PNAS* 2012), et que l'écoulement microfluidique est un moyen efficace et fiable de mettre les filaments sous tension mécanique (Jégou et al., *Nat. Commun.* 2013).

Le travail de stage/thèse consistera à utiliser et à combiner ces différentes approches afin d'étudier comment l'interaction d'un filament avec diverses protéines régulatrices est modulé par des contraintes mécaniques. On s'intéressera ainsi à des protéines qui coiffent, stabilisent, déstabilisent ou fragmentent les filaments. On commencera par appliquer des forces de tension aux filaments, mais on cherchera également à faire évoluer le montage expérimental afin d'appliquer d'autres types de contraintes mécaniques aux filaments (courbure, par exemple).

Ce projet sera mené au sein d'une équipe particulièrement pluridisciplinaire, qui offre une opportunité unique pour consolider sa formation à l'interface physique-biologie.

Page web de l'équipe : <http://www.lebs.cnrs-gif.fr/en/teams/leclainche-renault/228.html>

« PROPOSITION DE STAGE »

Laboratoire :  (Imagerie et Modélisation en Neurobiologie et Cancérologie)

Adresse : Université Paris-Sud – Campus d'Orsay – Bat 440

Responsable(s) de Stage : O. Seksek / C. Deroulers / M. Badoual

Téléphone : 01-69-15-32-68 /
01-69-15-36-41

Email: [seksek](mailto:seksek@imnc.in2p3.fr) ou [deroulers](mailto:deroulers@imnc.in2p3.fr) ou [badoual](mailto:badoual@imnc.in2p3.fr) @imnc.in2p3.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées :

A discuter suivant l'orientation (biologie ou physique) des travaux.

Titre du stage : Modélisation de la croissance tumorale à partir de données obtenues *in vitro*

Résumé :

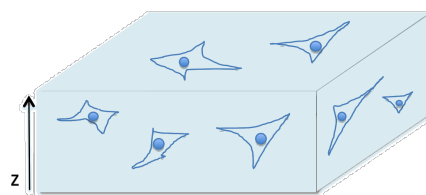
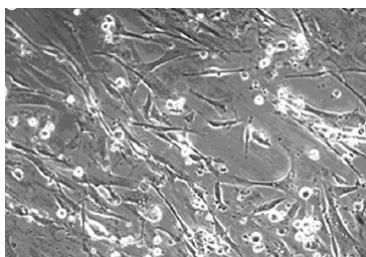
Les tumeurs cérébrales de type gliome font partie des tumeurs dont le pronostic est souvent défavorable à moyen terme du fait de leur invasivité importante et de la difficulté à détecter les quelques cellules cancéreuses ayant migré hors du champ opérable. À côté de la mise au point de nouveaux systèmes de détection clinique, la modélisation de la croissance de telles tumeurs pourrait également permettre de "prévoir" l'évolution cancéreuse et ainsi de guider plus précisément le geste chirurgical sur des zones susceptibles de voir apparaître des récives

Dans ce contexte et pour ce projet de stage, nous proposons deux axes différents mais complémentaires.

1) Partie expérimentale: en utilisant des techniques de culture cellulaire et de microscopie optique (épi-fluorescence), la croissance de cellules tumorales (lignées RG2 ou F98 de gliome de rat) ou saines (cellules primaires de souris) sera enregistrée en temps réel, sur des substrats de type 2D (simple fond de boîte de Petri), mais également 3D (gels mimant la matrice extracellulaire). La mise au point des conditions optimales de croissance dans ces gels fera partie intégrante du stage.

2) Partie théorique: à partir des données obtenues expérimentalement, un modèle mathématique de développement tumoral *in vitro* sera développé pour reconstruire numériquement des cartes de cellules en prolifération. Nous partirons d'un modèle simple, basé sur une équation aux dérivées partielles de diffusion-prolifération (le terme de diffusion modélisant la migration des cellules) et tenant compte de la géométrie du champ de croissance observé (présence d'obstacles, différence 2D/3D...) Bien qu'éloigné du stade tumoral proprement dit, ce modèle simple cherchera à se rapprocher d'un stade avasculaire et "idéal" de tumeur.

Ce projet, par la complémentarité des approches biologique (obtention du "sujet" d'étude), et mathématique (traitement des données pour obtenir un modèle final) est résolument interdisciplinaire et le (la) candidat(e) devra avoir une réelle affinité pour ces deux aspects. Il lui permettra de mettre en pratique et d'enrichir une double compétence à la fois expérimentale et théorique.



PROPOSITION DE STAGE DE M2 - 2013/2014

Responsable(s) de Stage : Pascal Silberzan

Equipe Physicobiologie aux Mésoéchelles

Institut Curie – Centre de recherche - Laboratoire PhysicoChimie Curie

11, rue Pierre et Marie Curie – 75005 Paris

Téléphone : 01 56 24 67 83 / Email : pascal.silberzan@curie.fr

Compétition cellulaire.

Deux souches cellulaires différentes sont en général incompatibles au sens physique du terme. C'est-à-dire que, cultivées simultanément, elles ne se mélangent pas mais forment des domaines distincts (on parle de « cell sorting »). Ces domaines entrent ensuite en compétition pour l'espace disponible (en pratique, la surface pour des cultures bidimensionnelles). Des mécanismes semblables sont mis en jeu lors la croissance d'îlots de cellules tumorales au sein de cellules saines.

Nous avons depuis plusieurs années, développé d'une part des dispositifs microfabriqués permettant de contrôler les géométries initiales dans lesquelles les cellules sont cultivées et, d'autre part, travaillé sur les aspects physiques de l'inhibition par contact, c'est-à-dire les phénomènes physiques et biologiques se produisant lorsqu'une monocouche de cellules arrive à confluence.

Il s'agira dans le stage proposé de caractériser les aspects physiques de la démixtion spontanée ou de la mise en contact de domaines cellulaires homogènes. Plusieurs systèmes cellulaires seront testés et en particulier i/ des couples de cellules saines et transformées issues de la même lignée, les secondes exprimant un oncogène et ii/ des cellules tumorales vis-à-vis de fibroblastes.

Nous caractériserons ces systèmes par les formes finales des îlots et leur dynamique d'évolution ainsi que par une cartographie précise des champs de vitesse et des champs de forces de traction exercées par les cellules. Nous jouerons sur l'environnement physique (géométrie initiale, densité cellulaire...) et nous utiliserons en parallèle des inhibiteurs et des facteurs de croissance spécifiques.

Ce projet implique des collaborations avec plusieurs groupes de biologistes et de théoriciens de l'Institut Curie et de l'ENS. Il pourra éventuellement se poursuivre en thèse.



Publications récentes (sélection) :

1/ Duclos G., Garcia S., Yevick H.G., Silberzan P.: *Perfect nematic order in confined monolayers of spindle-shaped cells*. Soft Matter in press (2013)

2/ Sepulveda N., Petitjean L., Cochet O., Grasland-Mongrain E., Silberzan P., Hakim V.: *Collective cell motion in an epithelial sheet can be quantitatively described by a stochastic interacting particle model*. PLoS Comp. Biol. **9**, (2013), e1002944.

3/ 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.

4/ Petitjean L., Reffay M., Grasland-Mongrain E., Poujade M., Ladoux B., Buguin A., Silberzan P.: *Velocity fields in a collectively migrating epithelium*. Biophys. J. **98**, (2010), 1790.

5/ Poujade M., Grasland-Mongrain E., Hertzog A., Jouanneau J., Chavrier P., Ladoux B., Buguin A., Silberzan P.: *Collective migration of an epithelial monolayer in response to a model wound*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **104**, (2007), 15988.

« PROPOSITION FOR INTERNSHIP PH.D. »

Laboratory : Soyer Lab;
http://osslab.lifesci.warwick.ac.uk/default_oss.aspx

Address : School of Life Sciences, University of Warwick

Scientist(s) in charge of the PhD project: Orkun S Soyer - PI. In addition, there would be co-mentors from the funding/partnering institute, DSTL (Defence Science & Technology Laboratory, UK). This project would also link with the work Kalesh Shashidran (postdoctoral researcher) is doing in the lab.

Telephone :
+44(0)24765 72968

Email :
O.Soyer@warwick.ac.uk

Funding expected : This PhD studentship is for 3-years and will be funded in accordance with RCUK (Research Councils, UK) guidelines. The funding is provided by DSTL. The student will be placed at the Soyer lab, but would interact with collaborators at DSTL.

Title of the project : Modelling virus-host interactions to identify novel therapeutic targets

Summary :

Parasites have evolved elaborate mechanisms for manipulating the host environment to improve their own survival and growth. In particular, viruses have evolved strategies to down-regulate expression or inhibit proper folding of specific host proteins. These strategies modulate host cell physiology and metabolism. An example of this is the ability of several viruses to use host cyclophilin A in the production of viral capsid, required for the infectious lifecycle [1, 2, 3]. More elaborate modulations include, for example, the alteration of lipid and GTP biosynthesis (reviewed in [4]). These findings raise the possibility that host metabolism could be modulated in such a way so to resist pathogen-mediated reprogramming, and thereby allow for increased host resistance [4, 5]. The steps towards the development of such a novel treatment approach are; (i) development of reliable models for the combined host-pathogen metabolism, (ii) development of novel analysis techniques for such models, so as to enable rational prediction of virus-host interactions and (iii) use and further development of methods for implementing therapeutic modulation of host metabolism.

This project builds on our expertise in analysing viral infection of host cells through a unique approach that treats the virus-infected cell as a single metabolic system. Using phage infection of E.coli cells as a model system, we have pioneered this approach and developed a modified version of the flux balance analysis (FBA) to analyse the impact of perturbations on host and virus [6]. This modified version of FBA draws inspiration from the study of co-evolutionary dynamics and pathogen-mediated interference of the host, which we have significant experience in studying through in silico evolution approaches [7,8]. In this project, we will further develop the modified FBA approach and combine it with kinetic modelling of metabolism, dynamic FBA and in silico evolution to study virus infections. The outcome of the modelling component will be the prediction of alterations (over-, under-expression) in host enzyme levels. These will then feed into an experimental pipeline that will be used to study the effect of predicted perturbations on viral growth. The experimental work will be conducted by our collaborators at DSTL.

[1] Damaso CR, Keller SJ., Cyclosporin A inhibits vaccinia virus replication in vitro, Archives of Virology, 1994

[2] Braaten and Luban, Cyclophilin A regulates HIV-1 infectivity, as demonstrated by gene targeting in human T cells, EMBO Journal, 2001

[3] Nakagawa *et al.*, Specific inhibition of hepatitis C virus replication by cyclosporin A, Biochemical and biophysical research communications, 2004

[4] Ikeda, M & Nobuyuki K. (2007) Modulation of Host Metabolism As a Target of New Antivirals." *Adv Drug Delivery Revs* 59:12

[5] Maynard, ND *et al.* (2010) The Virus As Metabolic Engineer. *Biotechnology Journal* 5:7

[6] Weegman, Kaitlin, Richard Titball, and Orkun S Soyer. "Genome-Scale Metabolic Models as Tools for Investigating Host-Pathogen Interactions", MSc Thesis, University of Exeter (2012).

[7] Salathé, Marcel, and Orkun S Soyer. "Parasites Lead to Evolution of Robustness Against Gene Loss in Host Signaling Networks." *Molecular systems biology* 4 (2008).

[8] Soyer, Orkun S, and Thomas Pfeiffer. "Evolution Under Fluctuating Environments Explains Observed Robustness in Metabolic Networks." *PLoS computational biology* 6, no. 8 (2010).

« PROPOSITION FOR INTERNSHIP PH.D. »

Laboratory : Soyer Lab;
http://osslab.lifesci.warwick.ac.uk/default_oss.aspx

Address : School of Life Sciences, University of Warwick

Scientist(s) in charge of the PhD project: Orkun S Soyer - PI.

Telephone :
+44(0)24765 72968

Email :
O.Soyer@warwick.ac.uk

Funding expected : This PhD studentship is for 3-years and will be funded in accordance with RCUK (Research Councils, UK) guidelines. The funding is provided by the School of Life Sciences, University of Warwick. The student will be placed at the Soyer lab.

Title of the project : Engineering synthetic signalling networks.

Summary :

The field of synthetic biology exploits the understanding and components from natural systems to rationally design synthetic ones that implement specific signaling dynamics. So far, this led to the development of oscillatory systems (1), systems with threshold dynamics (2) and logic gates (3-4). In most cases, these studies use transcriptional regulation to implement the desired dynamics, while a few studies have explored the possibility of extending synthetic design approaches to signaling networks (5-6). Bacterial systems are particularly attractive for attempting synthetic engineering of signaling networks. All bacteria and certain eukaryotic microbes and plants utilize the so-called two-component signaling systems for signal transduction (7). In recent work, we have been using experimental and theoretical approaches to analyse the single-dose relationships that two-component signaling systems embed (8-10). In this project, we will build on these findings and attempt engineering of two-component signaling networks with defined dynamics. Our approach will comprise both engineering of specific systems composed of few two-component proteins implemented in a host, and parallel, cell scale engineering of all two-component systems in a given organism. The resulting systems will extend the toolbox of synthetic biology, improve our understanding of cellular signaling, and lead to potential of biotechnological applications.

1. Elowitz MB, Leibler S (2000) A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators. *Nature* 403: 335-338.
2. Khalil AS, Lu TK, Bashor CJ, Ramirez CL, Pyenson NC, Joung JK, and Collins JJ (2012) A synthetic biology framework for programming eukaryotic transcription functions. *Cell* 150: 647-658.
3. Gardner TS, Cantor CR and Collins. Gardner TS, Cantor CR and Collins JJ (2000) Construction of a genetic toggle switch in *Escherichia coli*. *Nature* 403, 339–342.
4. Friedland AE *et al.* (2009) Synthetic Gene Networks that Count. *Science* 324, 1199–1202. Wang B, Kitney RI, Joly N and Buck M (2011)
5. Whitaker WR, Davis SA, Arkin AP and Dueber JE (2012) Engineering robust control of two-component system phosphotransfer using modular scaffolds. *PNAS* 109, 18090-18095.
6. Peisajovich SG, Garbarino JE, Wei P and Lim W A (2010) Rapid diversification of cell signaling phenotypes by modular domain recombination. *Science Signaling*, 328(5976), 368.
7. Stock AM, Robinson VL, Goudreau PN (2000) Two-component signal transduction. *Annual Review of Biochemistry*, 69: 183-215.
8. Csikász-Nagy, Attila, Luca Cardelli, and Orkun S Soyer (2011). Response Dynamics of Phosphorelays Suggest Their Potential Utility in Cell Signalling. *J. Royal Society, Interface* 8, no. 57.
9. Amin, Munia, Steven L Porter, and Orkun S Soyer (2013). Split Histidine Kinases Enable Ultrasensitivity and Bistability in Two-component Signaling Networks. *PLoS CB* 9, no. 3.
10. Kothamachu V.B., Feliu E., Wiuf C., Cardelli L. and Soyer O.S. (2013). Phosphorelays provide tunable signal processing capabilities for the cell. *PLoS Computational Biology*, *in press*.

Master's Thesis Research Project Proposal:

Single-Molecule Analysis of Transcriptional Interference

Biomolecular Nanomanipulation Group, Institut Jacques Monod, Paris, France

Transcription is the mechanism by which a DNA segment is transcribed into RNA by RNA polymerase (RNAP). While a fraction of transcripts directly codes for protein, a large fraction of RNAs are non-coding transcripts (up to 90% for humans). Among them, cis-encoded antisense (as) RNA (where there is an overlap between the cis asRNA and a target gene) play a key role in the regulation of gene expression. The existence of convergent promoters leads to transcription interference (TI). Here, we define TI as the repression of transcription due to the interaction between RNA polymerases transcribing from promoters that are arranged face to face. Recent in vitro experiments suggest that both RNAP and RNAPII collisions interrupt transcription. Also, in vivo studies (head-to-head transcription directed by two inducible promoters separated by a coding region lacking transcriptional terminators) show evidence for collided, non-productive polymerases. Because these “bulk” experiments only measure average properties and cannot follow individual molecules, they usually fail to observe reaction intermediates or determine rate-limiting steps. Single-molecule approaches are better suited to overcome these limitations. In particular, magnetic tweezers (MT) is a technique of choice to study cellular processes, like transcription [1,2], as it allows the direct study of changes in the topology of DNA resulting from the activity of enzymes (e.g. topoisomerases, RNAP)

This project will therefore use single-molecule nanomanipulation methods to directly observe and study transcription interference occurring in real-time and on individual, nanomanipulated DNA molecules. Both convergent TI (based on promoters firing RNAP molecules at each other) and “traffic-jam” TI (based on stalling an RNAP and allowing a controlled number of RNAPs to ram into the stalled RNAP from behind) will be considered, allowing for quantitative analysis of collective phenomenon arising from the simultaneous interactions of multiple molecular motors.

[1] Abortive initiation and productive initiation by RNA polymerase involve DNA scrunching.
A. Revyakin, C.-Y. Liu, R.H. Ebright and T.R. Strick (2006) *Science* **314**: 1139—1143.

[2] Real-time detection of the initiation of transcription-coupled repair at single-molecule resolution.
K. Howan, A. Smith, L. Westblade, N. Joly, W. Grange, S. Zorman, S. Darst, N. Savery and T.R.Strick (2012) *Nature* **490**: 431—434.

Contact: Terence STRICK (strick.terence@ijm.univ-paris-diderot.fr)

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Evolution et développement des métazoaires – Institut Jacques Monod
Adresse : Bâtiment Buffon, Université Paris Diderot 75005 Paris cedex 13
Responsable(s) de Stage : Michel Vervoort et Pierre Kerner
Téléphone : 0157278002 **Email :** vervoort.michel@ijm.univ-paris-diderot.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : ED Bio Sorbonne Paris Cité (GC2iD)

Titre du stage : Morphogenèse du système nerveux central chez l'annélide *Platynereis dumerilii*

Résumé :

L'annélide *Platynereis dumerilii* est devenu ces dernières années un nouvel organisme-modèle pour étudier le développement et l'évolution du système nerveux chez les animaux. Dans notre équipe, nous avons caractérisé les principales étapes du développement du système nerveux central à l'aide d'une série de marqueurs moléculaires (par ex. Simionato et al. 2008 BMC Evol. Biol.; Kerner et al., 2009 Evol. Dev.). Plus récemment, nous avons mis en évidence un contrôle de la prolifération et de la différenciation cellulaire dans le système nerveux en formation par la voie de signalisation Wnt/ β -catenin (Demilly et al., 2013 Nature Comm.). Nous avons également étudié la possible implication d'une autre voie de signalisation, la voie dite de Polarité planaire (PCP), dans la morphogenèse précoce du tissu donnant naissance au système nerveux central, le neurectoderme, et démontré le rôle important de la kinase ROK, un des effecteurs connus de la voie PCP, dans ce processus (Demilly et al., 2013 Nature Comm.).

Dans le cadre d'un stage de M2, nous proposons de continuer la caractérisation moléculaire de la neurogenèse chez *Platynereis*. Dans un premier temps, il s'agira de cloner et de caractériser l'expression chez *Platynereis* des gènes de la famille PRDM, connus pour leurs rôles clés dans la neurogenèse chez d'autres organismes. Dans un second temps, le stagiaire clonera et analysera l'expression d'autres gènes connus comme étant des effecteurs de la voie PCP, ainsi que les gènes de la voie Hippo connue pour son rôle très important dans le contrôle de la prolifération cellulaire. Parallèlement à ces analyses moléculaires, le stagiaire étudiera l'implication de la myosine II, connue dans d'autres modèles pour sa fonction dans les mouvements et la déformation des cellules, dans la morphogenèse du neurectoderme de *Platynereis*, via l'étude de la localisation de cette protéine et des effets de l'inhibition de la fonction de cette molécule suite à l'utilisation d'un inhibiteur chimique spécifique.

Dans le cadre d'une thèse, ce travail sera poursuivi par l'étude du comportement des cellules du neurectoderme par microscopie 4D. Les films obtenus seront notamment utilisés pour faire le suivi au cours du temps de cellules individuelles et modéliser les mouvements des cellules au niveau du tissu entier. Cette modélisation sera utilisée pour définir les forces agissant durant les mouvements cellulaires étudiés. Ce travail se fera en collaboration avec V. Fleury (MSC) initiée dans le cadre du laboratoire d'excellence (labex) « Who Am I ? ». Les rôles des voies PCP, ROK, Myosine II et Hippo seront étudiées de manière détaillée, grâce à l'étude de la dynamique de la localisation de certaines des protéines au cours du développement (via l'étude de fusion de la protéine d'intérêt avec une protéine fluorescente) et grâce à l'invalidation ciblée, notamment par l'injection de morpholinos, de certains de ces gènes.

Le travail de M2 et de thèse sera co-encadré par Michel Vervoort et Pierre Kerner.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Adhésion et Inflammation, CNRS,
Inserm, Université Aix-Marseille

Adresse : Parc scientifique de Luminy,
Marseille

Responsable(s) de Stage : Annie Viallat,
directrice de recherche au CNRS

Téléphone : 04 91 82 88 53

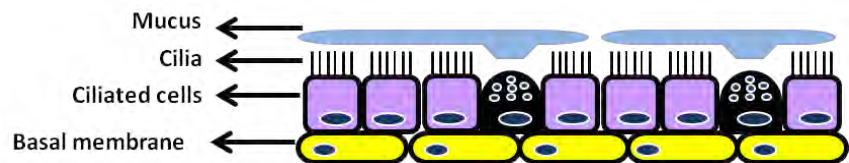
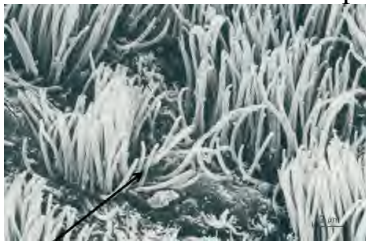
Email : annie.viallat@inserm.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : Physique et sciences de la matière (352)

Titre du stage : l'escalator muco-ciliaire dans l'asthme sévère

Résumé :

Les parois des bronches sont recouvertes de cellules ciliées. Les cils baignent dans un fluide périciliaire qui va presque jusqu'à leur sommet ; le haut des cils est pris dans la couche de mucus. Le mucus est transporté et éliminé par le mouvement coordonné des cils.



Les maladies chroniques sévères des bronches sont associées à une hypersécrétion de mucus dans les voies respiratoires et à une altération du transport mucociliaire.

L'objectif est d'explorer les bases physiques de cette altération sur des tissus épithéliaux modèles.

Nous mesurerons les propriétés rhéologiques du mucus, la dynamique ciliaire et leurs effets sur la clairance mucociliaire dans l'asthme sévère. Nous utilisons un modèle original de reconstitution 3D *in vitro* de l'épithélium bronchique en interface air/liquide obtenu à partir de biopsies endo-bronchiques de patients asthmatiques.

Méthodes :

Sur chaque épithélium reconstitué, on mesurera la concentration du mucus. On étudiera les propriétés rhéologiques du mucus par **microrhéologie in situ** et l'**activité ciliaire par vidéo-microscopie**: fraction surfacique occupée par les cils battants, fréquences de battement, zones de battements coordonnés, vitesse de transport du mucus. On étudiera la structure de l'épithélium et l'activité ciliaire par microscopie confocale.

On étudiera l'effet de la viscosité du mucus sur son mouvement en utilisant des polymères modèles pour mimer le mucus

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : *Laboratoire d'Optique et Biosciences*

Adresse : *Ecole Polytechnique, 91120 Palaiseau*

Responsable(s) de Stage : *Marten VOS*

Téléphone : *0169335066* **Email :** *marten.vos@polytechnique.edu*

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : *ED 447, de l'Ecole Polytechnique, puis ED Interfaces, en cours de montage.*

Titre du stage : *Dynamique interne des flavoprotéines étudiée par spectroscopie femtoseconde*

Résumé :

Les changements de conformation de protéines jouent un rôle vital dans les processus biochimiques. Ils peuvent varier de mouvements locaux de faible amplitude pendant le transfert d'électron à des mouvements de domaine très étendus souvent rencontrés dans la catalyse enzymatique. Ce projet vise à visualiser des mouvements d'enzymes associés à leurs fonctions catalytiques. Nous utilisons la spectroscopie de fluorescence et d'absorption femtoseconde pour visualiser ces mouvements. En particulier, le transfert d'électron vers des flavines photoactivées, dont la vitesse est extrêmement sensible à la distance entre le donneur et l'accepteur d'électron, sera exploité. Cette ligne de recherche est financée par un projet ANR Piribio (interface sciences du vivant-physique-chimie). Nous avons démontré très récemment que les mouvements dans l'enzyme extrêmement flexible ThyX sont associés à l'interaction avec leurs substrats naturels et que cette méthode biophysique peut être utilisée pour investiguer des inhibiteurs pharmacologiques potentiels(1). Le stage concerne l'étude d'effets de mutations dans ThyX sur la flexibilité fonctionnelle de l'enzyme (une cible antibactérienne potentielle importante), en associant l'utilisation de montages d'optique femtoseconde existants (pour la fluorescence et pour l'absorption), la mutagenèse dirigée, et des simulations de la dynamique moléculaire. Un encadrement à la fois pour les aspects spectroscopiques et pour les aspects de biochimie est prévu.

1. Laptanok, S. P., Bouzahir-Sima, L., Lambry, J.-C., Myllykallio, H., Liebl, U., and Vos, M. H. (2013) Ultrafast real time visualization of the active site flexibility of the flavoenzyme thymidylate synthase ThyX, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 110, 8924-8929.

PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE

Laboratoire : Laboratoire Charles Fabry – groupe Biophotonique

Adresse : Institut d'Optique, 2 avenue Augustin Fresnel, Palaiseau

Responsables de Stage : Nathalie Westbrook et Karen Perronet

Téléphone : 01 64 53 33 41 (NW) ou 33 48 (KP)

Email : nathalie.westbrook@institutoptique.fr, karen.perronet@institutoptique.fr

Ecole Doctorale de rattachement envisagée : Ondes et Matière (ED n°288)

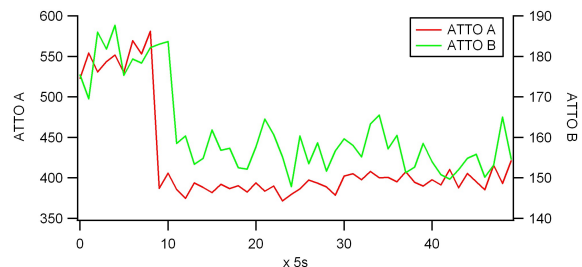
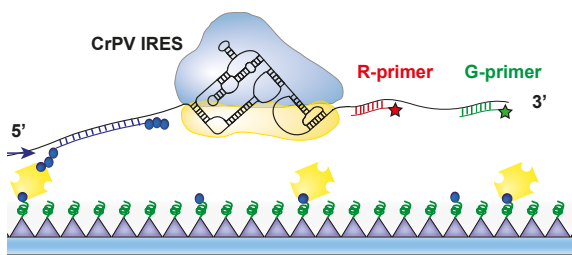
Titre du stage: Etude des erreurs programmées du ribosome par microscopie de fluorescence en molécule unique

Projet en collaboration avec l'équipe « Génomique, structure et traduction » à l'Institut de Génétique et Microbiologie (Université Paris-Sud, Orsay).

Résumé :

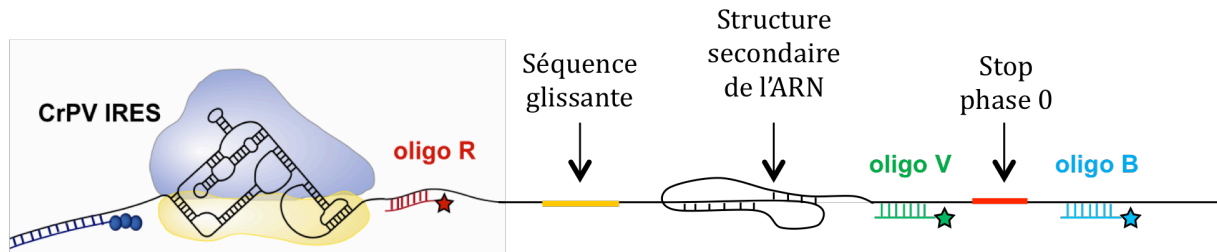
La synthèse d'une protéine est un processus cellulaire fondamental. Cette fonction est réalisée par un moteur moléculaire, le ribosome, dont la structure a été élucidée au début des années 2000 (voir prix Nobel de Chimie 2009). Cependant la dynamique de ce moteur recèle encore de nombreuses surprises, qui interviennent dans des processus aussi divers que l'efficacité des antibiotiques, la réplication des virus ou des maladies génétiques associées à la non synthèse de certaines protéines. Les études en molécule unique par microscopie de fluorescence ont déjà apporté plusieurs éléments nouveaux dans la compréhension du fonctionnement du ribosome bactérien, mais à ce jour très peu de travaux ont été réalisés sur les organismes eucaryotes, plus complexes.

Au cours de la thèse de Nicolas Fizman, nous avons pu observer un ribosome de mammifère en cours de traduction grâce à des jalons fluorescents hybridés sur l'ARN qui disparaissent en cours de traduction (voir figure ci-dessous). Nous avons également pu mettre en évidence un retard à la première incorporation d'un acide aminé dans la protéine, due à l'initiation du ribosome par une structure de type IRES. Ce type de structure intervient dans le mode de réplication de certains virus. Ces résultats représentent la première observation de la traduction par un ribosome eucaryote en molécule unique.



Ces expériences ouvrent la voie à l'étude d'erreurs programmées dans la traduction

du ribosome, qu'il s'agisse de la translecture (possibilité de franchissement d'un codon stop) ou du décalage de phase (qui permet de traduire deux protéines différentes à partir d'un même code génétique). Un exemple du type d'expérience envisagée est représenté sur la figure suivante:



Au cours de sa thèse, l'étudiant(e) sera amené(e) à travailler en binôme avec un doctorant biologiste de l'équipe d'Olivier Namy à l'IGM qui a démarré en octobre 2012. Il/elle sera également impliqué(e) dans les expériences sur les ribosomes procaryotes dans le cadre d'un projet ANR avec des équipes du CGM et de l'ISV à Gif/Yvette. Une forte implication de l'étudiant dans la compréhension des enjeux biologiques est indispensable. Des financements de type interdisciplinaire sont envisagés, le rattachement se faisant toujours à l'école doctorale de physique Ondes et Matière.

Au cours du stage de M2 qui précèdera cette thèse, l'étudiant(e) pourra contribuer à la partie biologique de synthèse des ARN et de purification des ribosomes effectuée dans le laboratoire de l'IGM où travaillent nos collaborateurs.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : de Physique des Solides

Adresse : Batiment 510, Université Paris-Sud Orsay

Responsable(s) de Stage : Eric Raspaud

Téléphone : 01 69 15 53 53

Email : eric.raspaud@u-psud.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : ED107

Titre du stage/thèse : Connectivité dans les biofilms

Résumé :

Les biofilms bactériens sont des colonies bactériennes en contact avec des surfaces/interfaces. Les bactéries sécrètent une matrice extracellulaire dans laquelle elles peuvent s'engluer et deviennent capables de survivre dans des conditions hostiles. Les biofilms sont présents dans tous les écosystèmes et ont des impacts aussi bien positifs (dans l'environnement: dépollution des sols, retraitement des eaux, et pour la santé : biofilms intestinaux, ...) que négatifs (corrosion, infections nosocomiales, problèmes d'hygiène agroalimentaire,...). Des études récentes montrent aussi que des biofilms sont capables de générer un courant électrique une fois formés dans des montages de type «Microbial Fuel Cells» (MFCs).

Nous nous intéressons aux propriétés liées à la connectivité entre bactéries et entre bactéries et surfaces colonisées: à la conductivité des biofilms, à leur élasticité/plasticité ainsi qu'à leur adhésion. Lors du stage/thèse, il s'agira de mesurer essentiellement la conductivité d'un biofilm - son impédance- en fonction de sa croissance, du type et traitement des électrodes, de l'espèce et souche de bactéries en vue de réaliser un montage MFC optimal.

Une collaboration interdisciplinaire locale (physique, chimie, microbiologie) est en cours et une collaboration internationale (avec séjour) est possible (Stanford et/ou Northwestern University).