

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

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

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

**Responsable de stage : Darine Abi Haidar & David Sevrain**

**Email : abihaidar@imnc.in2p3.fr**

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED EOBE (Electrical, Optical, Bio-Physics and Engineering)**

**Profil recherché : Biophysicien**

**Possibilité de poursuite en thèse : Oui**

**Financement envisagé : IDEX**

**Titre du stage : Imagerie multiphotonique et analyse spectrale et temporelle des biopsies humaines.**

## **Résumé :**

Le stage s'inscrit dans le cadre d'un projet scientifique pluridisciplinaire rassemblant physiciens, médecins et biologistes. Ce projet intitulé « Multimodale Endomicroscopy with Varifocal Optics » a obtenu le soutien financier du programme « Plan Cancer ». Dans ce cadre, l'équipe « Imagerie Biophotonique In Vivo » du laboratoire IMNC et le service de neurochirurgie de l'hôpital Saint-Anne (Professeur Bertrand DEVAUX (neurochirurgie) et Dr. Pascal Varlet (anatomopathologie)), travaillent en étroite collaboration.

## **Cadre de travail**

La chirurgie d'exérèse reste de nos jours le traitement le plus efficace dans le cas des gliomes malins. Néanmoins, la définition de la limite de l'exérèse tumorale souffre d'imprécision. Cette difficulté de détermination des berges est essentiellement liée à la même apparence visuelle entre tissus sains et infiltrés. En conséquence, des récidives apparaissent rapidement ce qui influe directement sur le confort des patients ainsi que sur leur durée de vie. Notre recherche se focalise sur cette problématique. Notre équipe a commencé le développement d'un endomicroscope fibré multiphotonique, à perspective d'utilisation clinique, dédié à la discrimination entre tissus sain, infiltré et tumoral par imagerie de la fluorescence endogène.

## **Mission**

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

L'imagerie optique et l'analyse spectrale et temporelle seront effectuées sur des tissus cérébraux fraîchement prélevés d'un patient durant une intervention chirurgicale. Au bloc opératoire, un montage de mesure de la durée de vie de fluorescence et de spectroscopie servira à faire des mesures sur des biopsies fraîchement prélevées. Cette étape est primordiale car elle permet de travailler dans des conditions très proches de l'état réel des tissus *in-situ*. Ces biopsies seront ensuite transportées dans un délai ne dépassant pas les 4H à la plateforme PIMPA du laboratoire IMNC. La caractérisation structurelle de ces échantillons sera effectuée en imageant séquentiellement les signaux de fluorescence à deux photons, de la génération de la seconde harmonique, de l'imagerie spectrale et de l'imagerie de la durée de vie de la fluorescence. Ces échantillons seront par la suite fixés et ramenés à l'hôpital.

Le but de ces mesures est de définir les paramètres expérimentaux du signal d'excitation nécessaires pour provoquer une réponse multiphotonique de l'échantillon biologique. Il s'agit de caractériser l'intensité du signal d'excitation, le temps d'acquisition, le taux de répétition, le type de filtre utilisé ainsi que la technique de maintien du tissu. L'histologie va certainement nous servir de référence de comparaison avec les images structurelles résultantes de la microscopie de fluorescence et va contribuer à l'analyse médicale et anatomopathologique des réponses optiques.

## « PROPOSITION DE STAGE ET DE THÈSE »

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

**Adresse : Ecole Polytechnique, 91128 Palaiseau**

**Responsable de stage : Jean-Marc ALLAIN**

**Email : [allain@lms.polytechnique.fr](mailto:allain@lms.polytechnique.fr)**

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : EDX (Ecole Doctorale de l'X)**

**Profil recherché : biophysicien**

**Possibilité de poursuite en thèse : oui**

**Financement envisagé : bourse ministère**

**Titre du stage : Etude multi-échelle des tissus riches en collagène**

### **Résumé :**

Pour comprendre le remodelage des tissus lors de chargements mécaniques, il est d'abord nécessaire de comprendre le lien entre les propriétés mécaniques du tissu et les déformations à l'échelle de la cellule (échelle micrométrique). Ce signal sera alors perçu par les cellules, qui réagiront en modifiant la microstructure du tissu, ce qui changera à terme les propriétés mécaniques globales.

En collaboration avec le Laboratoire d'Optique et Biosciences de l'Ecole Polytechnique, nous avons mis au point un nouveau dispositif expérimental qui permet d'observer l'évolution de la microstructure de tissus riches en collagène (peau, tendon, cornée...) pendant un essai mécanique. Nous voulons maintenant utiliser ce dispositif pour à la fois déterminer le lien entre l'organisation du tissu et sa réponse mécanique, et, sur un plus long terme, son remodelage.

Deux approches sont en cours. La première porte sur la peau de souris, sur laquelle nous avons déjà travaillé et pour laquelle nous avons développé des outils quantitatifs de mesure de la microstructure. Il s'agit maintenant de venir compléter la gamme des caractérisations mécaniques, via des tractions dans plusieurs directions et à différentes vitesses, avant de comparer aux modèles existants. De plus, nous prévoyons de travailler sur des tissus modifiés, soit par une cicatrisation, soit par une mutation.

Une autre approche porte sur des matrices de remplacement de la cornée. Ces matrices sont fabriquées dans le groupe de Gervaise Mosser à Paris 6, avec une organisation contrôlée. L'objectif est maintenant de lier les propriétés mécaniques au protocole de fabrication pour obtenir des matériaux « réalistes », puis de mettre ces tissus en culture sous différentes conditions mécaniques – afin d'obtenir un tissu greffable.

# « PROPOSITION DE STAGE ET DE THÈSE »

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

**Adresse : Ecole Polytechnique, 91128 Palaiseau**

**Responsable de stage : Jean-Marc ALLAIN**

**Email : allain@lms.polytechnique.fr**

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : EDX (Ecole Doctorale de l'X)**

**Profil recherché: biophysicien**

**Possibilité de poursuite en thèse : oui**

**Financement envisagé : École Doctorale**

**Titre du stage : Formes et croissance de la racine végétale**

## **Résumé :**

Nous nous intéressons aux mécanismes de morphogénèse chez la plante, en particulier de l'organe racinaire qui présente des formes complexes. La régulation de ces formes est multiparamétrée et fait l'objet d'une régulation mécanique à l'échelle cellulaire – notamment par les éléments soumis aux contraintes et tensions tels que : la paroi, la membrane et le cytosquelette.

Plusieurs aspects de la morphogénèse pourront être abordés pendant la thèse : croissance globale, formation des racines secondaires, formes des poils absorbants, etc. L'objectif est de construire des modèles mécaniques les plus simples possibles, tout en étant capable de reproduire les données expérimentales dont nous disposons.

Le point de départ de la thèse sera la modélisation du changement de forme du poil racinaire de Luzerne passant d'une forme droite à une forme courbée en «crosse de berger». Le poil absorbant, composé d'une cellule unique, représente un système modèle en biologie. Ce poil réagit à la présence de la bactérie symbiotique *Rhizobium* du sol en se recourbant (voir figure). Il acquiert ainsi une forme de crosse qui va créer un espace de confinement pour la bactérie (une poche) et ainsi lui permettre de pénétrer dans la plante. Ce changement de forme est un événement mal compris mais représente l'élément clé initial de l'association symbiotique des bactéries avec les légumineuses. Cette symbiose qui se produit chez les légumineuses sur un sol pauvre en fertilisant azotés permet l'assimilation de l'azote atmosphérique ( $N_2$ ) par la plante. Un tel phénomène qui permet des économies d'énergie et monétaires considérables est d'un enjeu majeur dans le contexte de défi « alimentaire » auquel nous aurons à faire dans les prochaines décennies. Le mécanisme biologique par lequel le poil va modifier sa forme est actuellement étudié par une combinaison d'approches expérimentales (biologie moléculaire, imagerie, biophysique) à l'Institut des Sciences Végétales, avec lequel nous collaborerons pendant la thèse.

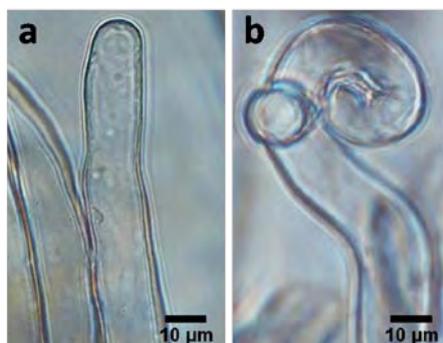


Figure : Courbure du poil absorbant de Luzerne

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire: Matière et Systèmes Complexes ET I2BC-Approches intégrées des transports d'ions

<http://www.msc.univ-paris-diderot.fr/spip.php?rubrique116> <http://www.isv.cnrs-gif.fr/recherche/st/sttheme3-msl.html>

Adresse : Laboratoire MSC - 10, rue Domon et Duquet, 75013 Paris

Responsable de stage : Atef Asnacios et Jean-Marie Frachisse

Email : [Atef.Asnacios@univ-paris-diderot.fr](mailto:Atef.Asnacios@univ-paris-diderot.fr) / [Jean-Marie.Frachisse@isv.cnrs-gif.fr](mailto:Jean-Marie.Frachisse@isv.cnrs-gif.fr)

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

Profil recherché: Physicien intéressé par l'expérimentation à l'interface physique/biologie, ou biologiste souhaitant se tourner vers la physique de la cellule vivante

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : ministériel ou Labex/IDEX

**Titre du stage : Rôle des canaux ioniques dans la mécanique et la régulation de la pression interne des cellules végétales.**

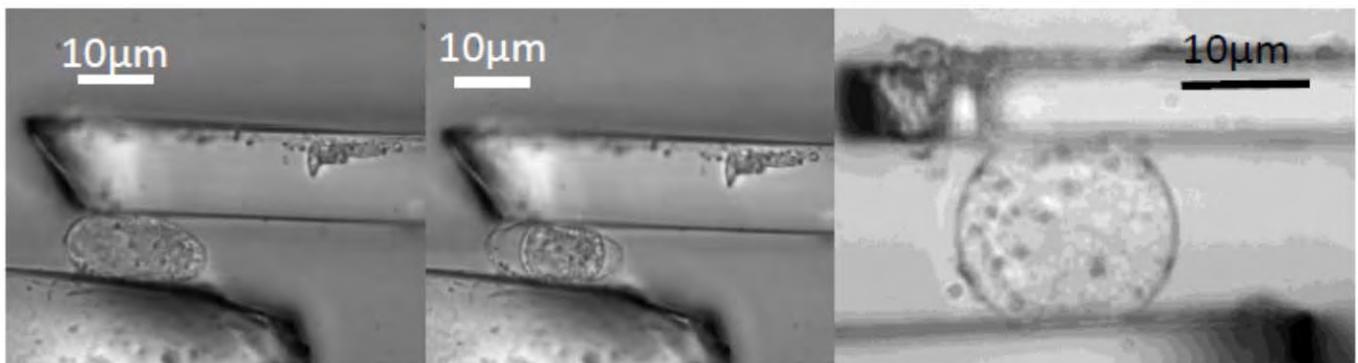
Résumé :

Les cellules végétales sont soumises à une pression interne, dite pression de turgescence. Cette pression, d'origine osmotique, participe au maintien mécanique des plantes et constitue le moteur de la croissance des végétaux. La régulation de cette pression est donc primordiale pour le bon fonctionnement et le développement des plantes.

Dans une thèse qui vient de se terminer, nous avons pu :

- d'une part quantifier la contribution de la pression de turgescence dans le comportement mécanique d'une cellule végétale isolée,
- d'autre part montrer que la mesure du module viscoélastique apparent de la cellule végétale permet de suivre l'évolution de la pression de turgescence lorsqu'on varie la composition du milieu environnant.

En d'autres termes, nous sommes donc en mesure de suivre, au travers de mesures mécaniques sur cellule unique, la manière dont une cellule de plante isolée adapte sa pression interne. Pour comprendre les processus impliqués dans cette régulation, nous proposons, au cours de ce stage, d'effectuer des mesures sur des cellules dont certains éléments (canaux ioniques, aquaporines, microtubules corticaux) sont perturbés ou rendus non fonctionnels afin de tester le rôle de ces différents éléments dans le processus de régulation de la pression de turgescence.



Cellule d'*Arabidopsis thaliana* prise entre deux micro-plaques de verre pour tests mécaniques (à gauche : pleine turgescence ; au milieu : faible pression de turgescence, la cellule végétale –dite protoplaste– est décollée de la paroi pecto-cellulosique ; à droite : protoplaste isolé, i.e. sans paroi).

Proposition de stage et de thèse

**Signal and image processing for cancer research: Profiling human DNA replicative stress**

Laboratoire : Laboratoire de Physique de l'ENS-Lyon

Adresse : Ecole Normale Supérieure de Lyon, 46 allée d'Italie, 69007 Lyon

Responsable de stage : Benjamin Audit and Stéphane Roux

Collaborateur : Olivier Hyrien, Institut de Biologie de l'Ecole Normale Supérieure, Paris

Contact: benjamin.audit@ens-lyon.fr, stephane.roux@ens-lyon.fr – 04 7272 8823 / 8378

Ecole Doctorale de rattachement: ED52 Physique et Astrophysique (PHAST)

Financement envisagé : MESR

Part of this PhD project can be the subject of a master internship.

Genomic instability is a hallmark of cancer, but it has been debated whether it is a driving force or a passive consequence of tumour progression. Research now strongly suggests that activated oncogenes cause replicative stress by dysregulation of replication origins, destabilisation of replication forks and early DNA damage<sup>1-5</sup>. Over the past 10 years, we have developed cutting edge technologies to profile the mammalian spatio-temporal replication program genome-wide<sup>6-15</sup>. The biochemical and computational techniques elaborated during these studies are now sufficiently mature to characterize the DNA replication stress during cancer progression. **The aim of the project is to develop the signal and image processing tools necessary for replication profiling in cancer research, in order to propose original protocols for diagnostic and therapeutic applications, and for the evaluation of tumoral cells' drug response.**

The first objective of the project is to take advantage that tumoral progression from its earliest pre-cancerous stages goes with concomitant changes in the DNA replication program, to develop a novel, replication-based profiling approach to characterize tumoral cells. This part of the project will consist in further developing signal processing methodologies based on the wavelet transform<sup>11,12</sup> to extract quantitative information about the DNA replication stress from experimental genome-wide replication profiles<sup>9</sup> obtained over population of cancer cells at different stage of the tumoral progression and in response to anti-cancer drugs.

Genomic methods available today only provide an average picture of genome replication in a cell population. Only single-molecule methods such as DNA combing can provide information about cell-to-cell heterogeneity in DNA replication patterns. The goal of the second part of the project is to contribute the computational tools for a novel methods to improve the throughput of DNA combing, to make it amenable to genome-scale replication studies, in particular in cancer research. It will consist in developing (i) automated image processing tools (morphologic analyses, directional wavelet transform) of high-resolution images of combed DNA and (ii) a strategy to find the genomic location of each combed DNA molecule based on its optical restriction map using dynamical programming techniques.

## Bibliography

- [1] Halazonetis, T. D., Gorgoulis, V. G. & Bartek, J. (2008). An oncogene-induced DNA damage model for cancer development. *Science* **319**, 1352–1355.
- [2] Helleday, T. (2008). Amplifying tumour-specific replication lesions by DNA repair inhibitors - a new era in targeted cancer therapy. *Eur. J. Cancer* **44**, 921–927.
- [3] Letessier, A., Millot, G. A., Koundrioukoff, S., Lachagès, A.-M., Vogt, N., Hansen, R. S., Malfoy, B., Brison, O. & Debatisse, M. (2011). Cell-type-specific replication initiation programs set fragility of the FRA3B fragile site. *Nature* **470**, 120–123.
- [4] Barlow, J. H., Faryabi, R. B., Callén, E., Wong, N., Malhowski, A., Chen, H. T., Gutierrez-Cruz, G., Sun, H.-W., McKinnon, P., Wright, G., Casellas, R., Robbiani, D. F., Staudt, L., Fernandez-Capetillo, O. & Nussenzweig, A. (2013). Identification of early replicating fragile sites that contribute to genome instability. *Cell* **152**, 620–632.
- [5] Hills, S. A. & Diffley, J. F. X. (2014). DNA replication and oncogene-induced replicative stress. *Curr. Biol.* **24**, R435–R444.
- [6] Brodie of Brodie, E.-B., Nicolay, S., Touchon, M., Audit, B., d’Aubenton-Carafa, Y., Thermes, C. & Arneodo, A. (2005). From DNA sequence analysis to modeling replication in the human genome. *Phys. Rev. Lett.* **94**, 248103.
- [7] Touchon, M., Nicolay, S., Audit, B., Brodie of Brodie, E.-B., d’Aubenton-Carafa, Y., Arneodo, A. & Thermes, C. (2005). Replication-associated strand asymmetries in mammalian genomes: toward detection of replication origins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 9836–9841.
- [8] Audit, B., Zaghoul, L., Vaillant, C., Chevereau, G., d’Aubenton-Carafa, Y., Thermes, C. & Arneodo, A. (2009). Open chromatin encoded in DNA sequence is the signature of “master” replication origins in human cells. *Nucleic Acids Res.* **37**, 6064–6075.
- [9] Chen, C.-L., Rappailles, A., Duquenne, L., Huvet, M., Guilbaud, G., Farinelli, L., Audit, B., d’Aubenton-Carafa, Y., Arneodo, A., Hyrien, O. & Thermes, C. (2010). Impact of replication timing on non-CpG and CpG substitution rates in mammalian genomes. *Genome Res.* **20**, 447–457.
- [10] Guilbaud, G., Rappailles, A., Baker, A., Chen, C.-L., Arneodo, A., Goldar, A., d’Aubenton-Carafa, Y., Thermes, C., Audit, B. & Hyrien, O. (2011). Evidence for sequential and increasing activation of replication origins along replication timing gradients in the human genome. *PLoS Comput. Biol.* **7**, e1002322.
- [11] Baker, A., Nicolay, S., Zaghoul, L., d’Aubenton-Carafa, Y., Thermes, C., Audit, B. & Arneodo, A. (2010). Wavelet-based method to disentangle transcription- and replication-associated strand asymmetries in mammalian genomes. *Appl. Comput. Harmon. Anal.* **28**, 150–170.
- [12] Audit, B., Baker, A., Chen, C.-L., Rappailles, A., Guilbaud, G., Julienne, H., Goldar, A., d’Aubenton Carafa, Y., Hyrien, O., Thermes, C. & Arneodo, A. (2013). Multiscale analysis of genome-wide replication timing profiles using a wavelet-based signal-processing algorithm. *Nat. Protoc.* **8**, 98–110.
- [13] Hyrien, O., Rappailles, A., Guilbaud, G., Baker, A., Chen, C.-L., Goldar, A., Petryk, N., Kahli, M., Ma, E., d’Aubenton Carafa, Y., Audit, B., Thermes, C. & Arneodo, A. (2013). From simple bacterial and archaeal replicons to replication N/U-domains. *J. Mol. Biol.* **425**, 4673–4689.
- [14] Picard, F., Cadoret, J.-C., Audit, B., Arneodo, A., Alberti, A., Battail, C., Duret, L. & Prioleau, M.-N. (2014). The spatiotemporal program of DNA replication is associated with specific combinations of chromatin marks in human cells. *PLoS Genet.* **10**, e1004282.
- [15] Zaghoul, L., Drillon, G., Boulos, R. E., Argoul, F., Thermes, C., Arneodo, A. & Audit, B. (2014). Large replication skew domains delimit GC-poor gene deserts in human. *Comput. Biol. Chem.*, in press .

# FlowBac : Rôle de la rhéotaxie sur la propagation des bactéries

Encadrants : Harold Auradou / Jean-Pierre Hulin (FAST)

En collaboration avec : Carine Douarche (LPS) et Eric Clément (PMMH)

Lieu du stage : Laboratoire FAST, Bât 502, Campus Paris Sud, 91405 Orsay

Contact : email [auradou@fast.u-psud.fr](mailto:auradou@fast.u-psud.fr) tél : 01 69 15 80 84

Notre équipe étudie le couplage entre les écoulements et la motilité des bactéries. Nous avons montré précédemment que ce couplage conduit à des situations singulières : proche d'une paroi les bactéries peuvent remonter l'écoulement, placées dans un écoulement cisailant elles peuvent dériver transversalement à l'écoulement (voir figure ci-dessous). Notre objectif est maintenant de mesurer l'influence de ce couplage sur la dissémination et la propagation d'une population de bactéries. Pour la mettre en évidence, nous allons considérer un écoulement « simple » pour lequel des mesures de référence avec particules passives sont déjà disponibles.

L'expérience que nous proposons consiste en l'injection, à un débit contrôlé, dans un capillaire en PDMS (Longueur=15 cm, diamètre= 150 ou 300 microns) d'un volume de fluide contenant des bactéries : celui-ci va déplacer le fluide pur initialement présent dans le capillaire. Au cours de l'écoulement, le front d'avancée des bactéries s'étale ; le but est de mesurer cet élargissement. Pour des traceurs passifs (des bactéries « mortes » par exemple), le mécanisme de l'étalement est bien connue, il s'agit de la dispersion de Taylor. Le but est de comparer les résultats expérimentaux avec des bactéries à cette situation de base.

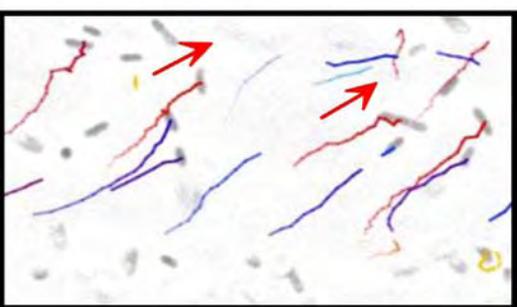
Le stage requière un goût prononcé pour l'expérimental. Pendant le stage, l'étudiant(e) acquerra des connaissances relatives à la préparation des fluides biologiques, à la microscopie, au traitement d'images et à la mécanique des fluides.

Le stage pourra se prolonger par une thèse sur le transport de bactéries en milieux poreux.



**Figure :** Les lignes de couleurs sont les trajectoires des bactéries (ici des E coli – le corps apparaît en gris) extraites par un algorithme de « tracking ». Les bactéries sont en suspension dans un fluide s'écoulant (vitesse moyenne 72 microns/s) dans un capillaire de diamètre 300 microns, La hauteur des images est de 40 microns.

(a) – Sur la figure (a), l'objectif du microscope est focalisé proche de la paroi, les ellipses rouges indiquent des bactéries remontant l'écoulement à une vitesse qui est leur vitesse de nage (ie. 20 microns/s).



(b) – La figure (b) montre le phénomène de *rhéotaxie*. L'objectif du microscope est focalisé loin de la paroi. Les bactéries ont une composante de leur vitesse qui est normale à l'écoulement : elles se déplacent en « crabe » comme l'indique les flèches rouges.

Écoulement →

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire : Interdisciplinaire de Physique**

**Adresse : 140 rue de la physique 38400 SMH (Grenoble)**

**Responsable de stage : Martial Balland**

**Email : martial.balland@ujf-grenoble.fr**

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : Ecole doctorale de physique de Grenoble**

**Profil recherché : Interface Physique-Biologie**

**Possibilité de poursuite en thèse : oui**

**Financement envisagé : MENRT/ contrat**

**Titre du stage : Architectural design of cell microenvironment to control cell biomechanical polarity**

**Résumé :** Cells sense and respond to their mechanical environment by exerting forces on their surroundings (1,2). The way forces are modulated by ECM properties plays a key role in tissue homeostasis. Recently, by combining soft substrate micropatterning and traction force microscopy we found that the extra-cellular matrix adhesive geometry can significantly impact the architecture of actin cytoskeleton and their related traction forces (3). 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.

Thus, single cell present a polarizability which is affected by the coupling of geometrical cues coming from their micro-environment and their mechanical activity. However we still have to explore the geometrical rules that define this cell orientation, in other words what are the rules that control the orientation of this biological compass. The goal of this internship is to define the architectural rules that define the orientation of those mechanical dipoles by playing on the geometry of cells adhesive environment. For that purpose, the applicant will have to culture cells on soft micropatterned substrates of various geometries and measure the relation between architectural ordering and force orientation. Once those relations established, we'll then apply these rules on larger scales so as to direct cell migration in a controlled way.

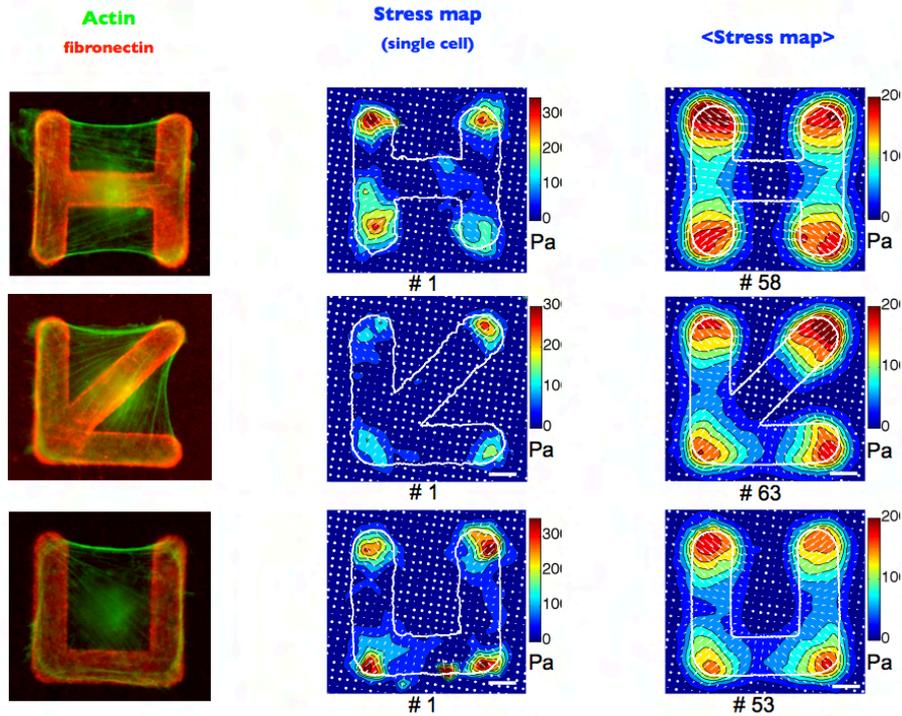
The applicant will work at the interface between microfabrication techniques, cell biology and cellular mechanics.

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.



***Patterned Traction Cytometry : a tool to quantify the relation between cellular architecture and cellular traction forces***

References:

(1) Integrins as mechanochemical transducers.

Ingber D. *Curr Opin Cell Biol.* 1991 Oct;3(5):841-8. Review.

(2) 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.* 2013 Mar 29;339(6127):1625-9

(3) 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 THÈSE »

**Laboratoire:** PhysicoChimie Curie – Institut Curie

**Adresse :** 11 Rue P. et M. Curie, 75005 Paris

**Responsable de stage :** Patricia Bassereau

**Email :** [patricia.bassereau@curie.fr](mailto:patricia.bassereau@curie.fr)

**N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement :** ED Physique de l'Île de France (EDPIF) - ED564  
ED Interdisciplinaire "Frontières du Vivant" - ED474

**Profil recherché:** Physique ou biophysique, expérimental

**Possibilité de poursuite en thèse :** OUI

**Financement envisagé :** Ecoles doctorales, Idex PSL

**Titre du stage :** Diffusion de transporteurs actifs dans des membranes modèles

### 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 en général 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 Saffmann 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**. De nombreuses protéines membranaires ont une fonction de transport (pompes ou canaux ioniques, transporteurs) transmembranaire qui implique des changements de conformation de la protéine, souvent médiés par l'hydrolyse de l'ATP. C'est le cas, par exemple, des **transporteurs ABC** qui sont impliqués dans l'efflux de drogues hors des cellules et responsables en particulier de la résistance aux médicaments anticancéreux. En présence d'ATP, ils effectuent des changements de conformation de grande amplitude au cours de leur cycle pour transporter leur substrat à travers la membrane cellulaire et donc changent de forme. Les échelles de temps du transport (10 à 100 ms) étant longues par rapport au temps caractéristique de diffusion ( $<ms$ ), on s'attend à ce que la mobilité de ces transporteurs dans les membranes soit affectée. En collaboration avec D. Lévy (Institut Curie), biologiste structuraliste spécialiste des transporteurs membranaires, nous proposons d'étudier la diffusion de transporteurs ABC (BmrA) reconstitués dans des liposomes géants (GUV). Leurs déplacements seront détectés par suivi de particules uniques (Fig. 1) grâce à l'accrochage de quantum dots (QD) sur les protéines. La collaboration avec D. Lacoste, théoricien à l'ESPCI) permettra de proposer un modèle plus complet de la diffusion des protéines membranaires, prenant en compte leurs changements de conformation hors-équilibre

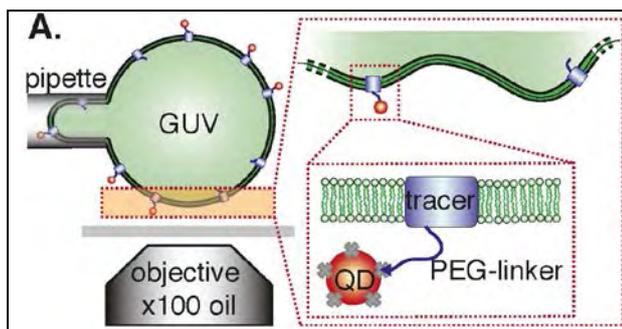


Figure 1: Montage expérimental permettant de mesurer la diffusion de protéines reconstituées dans une vésicule géante (GUV) dont la tension est contrôlée par l'aspiration par micropipette. La trajectoire des protéines est détectée par le suivi de quantum dots (QD) attachés aux protéines.

### 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.*, Proc. Natl Acad. Sci. USA **111** 5083 (2014).

# « PROPOSITION DE STAGE ET DE THÈSE »

**Laboratoire:** Physico Chimie Curie – Institut Curie

**Adresse :** 11 Rue P. et M. Curie, 75005 Paris

**Responsable de stage :** Patricia Bassereau

**Email :** [patricia.bassereau@curie.fr](mailto:patricia.bassereau@curie.fr)

**N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement :** ED Physique de l'Île de France (EDPIF) - ED564  
ED Interdisciplinaire "Frontières du Vivant" - ED474

**Profil recherché:** Physique ou biophysique, expérimental

**Possibilité de poursuite en thèse :** OUI

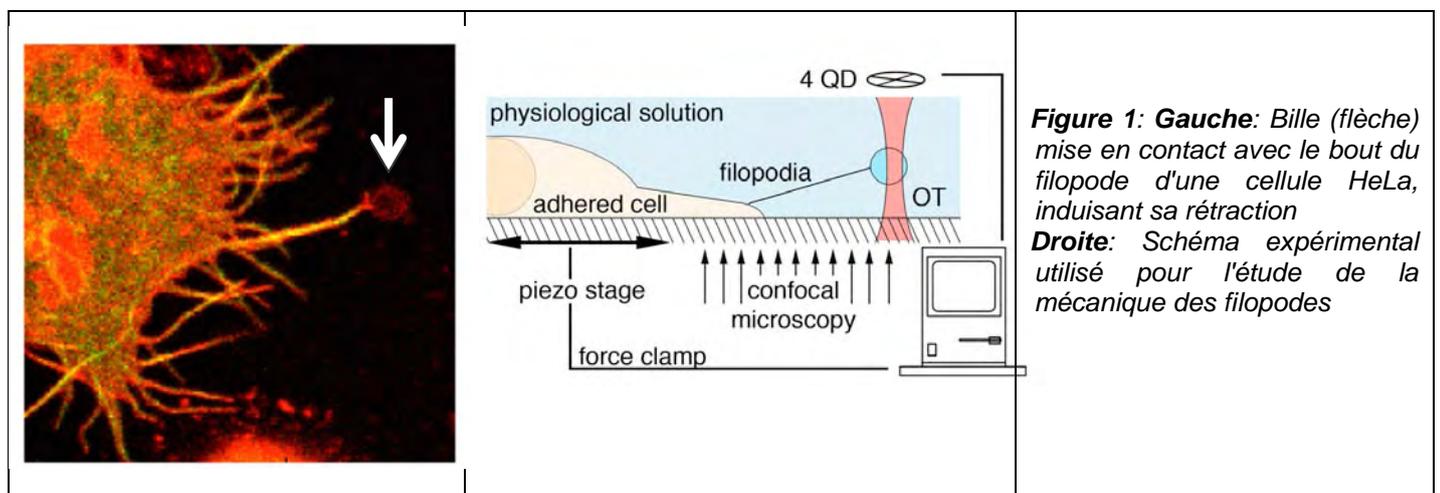
**Financement envisagé :** Ecoles doctorales, Idex PSL

## Titre du stage : Mécanique de filopodes cellulaires uniques

### Résumé :

Les filopodes sont de fines structures tubulaires très dynamiques à la périphérie des cellules qui leur permettent de sentir leur entourage et d'exercer des forces de traction [1]. En collaboration avec G. Tran van Nhieu (Collège de France), nous avons montré que le contact adhésif du bout des filopodes avec des billes induisait leur rétraction spontanée (Fig. 1-gauche) [2]. Avec un montage de pince optique (Fig.1-droite), nous avons démontré ensuite que la force de rétraction est générée par le flux rétrograde généré dans le cortex cellulaire. Néanmoins, bien que cette force soit élevée (probablement de l'ordre du nN), les forces que les filopodes peuvent exercer sont en général inférieures à 50pN [3]. Ceci s'explique par la faiblesse des liens qui lient les filaments d'actine à la membrane du bout des filopodes: en effet, nous avons démontré la rupture de ces liens en présence d'une force externe. Néanmoins, de façon inattendue, l'actine est capable de repolymériser et de rétablir la connexion donnant lieu à un processus de type "stick-slip" [3]. Les filopodes disposent donc d'un système de mécano-sensing très original à leur extrémité que nous souhaitons maintenant mieux comprendre d'un point de vue moléculaire.

Nous voulons étudier les protéines impliquées dans la transmission du signal à partir des molécules d'adhérence en contact avec les billes, jusqu'à l'actine: **comprendre l'origine de l'arrêt de la polymérisation d'actine au contact de bille, et la repolymérisation après rupture des liens**. De même, les protéines à domaine I-BAR (MIM, IRSp53) de protéines que nous étudions actuellement in vitro (impliquées dans la déformation de membranes, sont présentes dans les filopodes et nous aimerions connaître leur contribution à la mécanique des filopodes. A terme, nous espérons comprendre l'origine des différences de dynamique avec d'autres structures cellulaires apparemment semblables : les stéréocils des cellules ciliées de la cochlée, les microvilli de la bordure en brosse. Elle sont toutes tubulaires et sont sous-tendues par des faisceaux d'actine. Nos études couplées à des modèles développés en particulier par J. Prost et J.F. Joanny, permettront de déterminer les paramètres pertinents pour la forme, la dynamique et la mécanique de toutes ces structures.



### Références

- [1] T. Bornschlöggl, Cytoskeleton **70**, 590 (2013).
- [2] S. Romero *et al.*, J. Cell Sci. **125** 4999 (2012).
- [3] T. Bornschlöggl *et al.*, Proc. Natl Acad. Sci. USA **110**, 18928 (2013).

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire :** Biologie du développement, Institut CURIE, UMR3215, Equipe interdisciplinaire « Polarité division et morphogénèse.

**Adresse :** 11-13 rue Pierre et Marie Curie 75248 Paris Cedex 05

**Responsable de stage :** Yohanns BELLAICHE, DR1 CNRS

**Email :** [yohanns.bellaiche@curie.fr](mailto:yohanns.bellaiche@curie.fr)

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** « Frontières du Vivant » or other interdisciplinary ED.

**Profil recherché:** Physicien/ne de formation.

**Possibilité de poursuite en thèse :** OUI

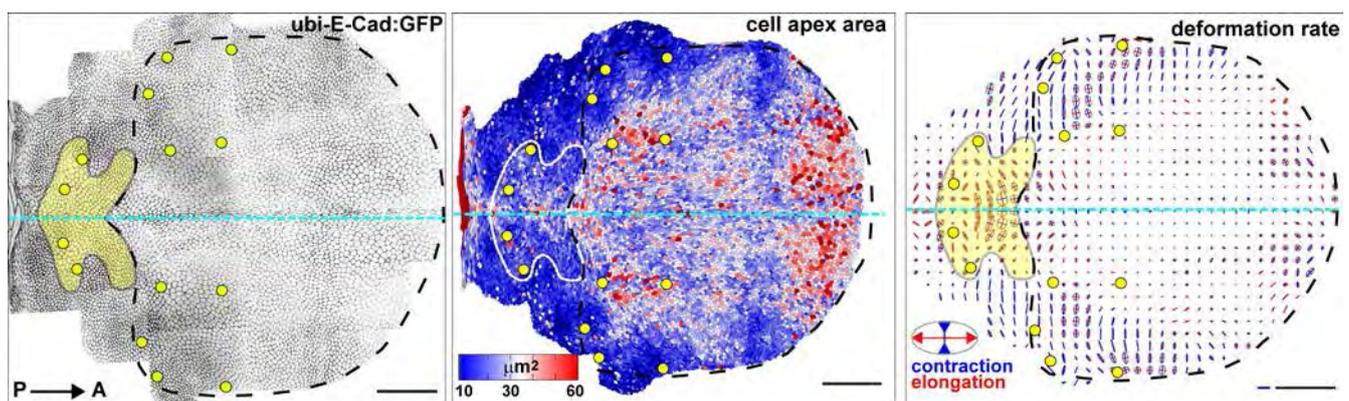
**Financement envisagé :** Bourse de l'ED ou du laboratoire (Financement ERC)

**Titre du stage :** Characterization of tissue and molecular motor dynamics during morphogenesis

Shape is one of the most striking properties of living organisms. Questions such as how can biological tissue move and what mechanisms underlie the diversity of organ shapes have interested developmental biologists for decades. Recent advances in tissue imaging, cell biology and active material physics phrase these questions in terms of cell dynamics and interplay between biochemical and mechanical processes. They highlight that understanding the acquisition of defined shapes by living systems requires interdisciplinary approaches to analyse how anisotropy of molecular motor regulates mechanical cell properties, how local cell dynamics generate large-scale deformation. Our interdisciplinary team (physics-biology) aims at understanding the biomechanical mechanisms that underlie the shaping of *Drosophila* epithelial tissue. In the context, we implemented a multi-scale imaging method to record morphogenesis of the *Drosophila* dorsal thorax during metamorphosis with excellent spatial and temporal dynamics. This multi-scale imaging enabled us to follow  $\sim 10^4$  cells over several cell cycles with unprecedented dynamics: 5 min resolution over 26 h of development and  $0.32 \mu\text{m}$  resolution over the  $\sim 750 \times 700 \mu\text{m}^2$  of the tissue (Bosveld et al., *Science* 2012).

In order to understand the interplay between mechanical forces and tissue morphogenesis, we now need to establish the first large tissue scale correlative map ( $10^4$  cells) of cell static characteristics (size, shape), cell dynamics, cytoskeleton regulators, stress and tissue deformation. In close collaboration with both biologists and physicists, the aim of the internship will be to: (i) apply an original statistical framework developed in the team to quantify and compare all aspects of cell dynamics and to link them to tissue growth, morphogenesis and tissue organization; (ii) determine the local stress using a recent validated method (Ishihara et al., in preparation); (iii) carry out the analysis of local molecular motor distributions such as MyosinII during tissue morphogenesis by using quantitative tools developed in the team.

Collectively these maps will permit to identify the biophysical mechanisms regulating tissue morphogenesis by analysis the correlation between cell dynamics and mechanical stress at the level of tissue. They will be the basis for identifying the link between gene expression and mechanics using both *Drosophila* mutant conditions and physical modelling of epithelial tissue dynamics.



Left: multi-scale live imaging of the *Drosophila* epithelial tissue; middle map of the cell apical size; right deformation rate of the tissue (for detail see, Bosveld et al., *Science*, 2012, 336:724-7).

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

**Laboratoire:** Unité de Microbiologie Structurale, Institut Pasteur de Paris

**Adresse :** 25 rue du Dr. Roux, 75724 Paris cedex 15

**Responsable de stage :** Pedro M. Alzari / Isabelle Miras

**Email :** pedro.alzari@pasteur.fr

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** ED436 / 'Médicament, Toxicologie, Chimie, Imageries' (MTCI), Université Paris Diderot

**Profil recherché:** Biochimiste/Biophysicien avec intérêt et motivation pour la biologie structurale

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** Contrat doctoral (allocation du ministère)

**Titre du stage :** Caractérisation structurale de la topoisomerase I de *Mycobacterium tuberculosis*

### Résumé :

Malgré elle soit considérée dans l'imaginaire collectif comme une maladie 'du passé', la tuberculose reste aujourd'hui une menace majeure pour la santé publique, avec un tiers de la population mondiale infectée de façon latente, et plus d'un million de morts par an (données OMS; <http://www.who.int/tb/fr>). Le problème est exacerbé d'une part par l'étendue de l'infection par le VIH, qui rend les individus particulièrement susceptibles à la tuberculose, d'autre part par la large diffusion de souches multi résistantes aux antibiotiques. L'efficacité des thérapies actuelles est donc limitée et le développement de nouveaux antibiotiques urgent. Notre unité est l'un de 25 membres du consortium européen MM4TB ('More Medicines for TB'), qui est dédié à cette tâche et regroupe des acteurs majeurs de l'académie et de l'industrie pharmaceutique en Europe.

Dans le cadre de l'activité de ce consortium, et en collaboration avec le groupe du Prof. V. Nagaraja (Institut Indien de Sciences, Bangalore), nous avons entamé une étude biophysique et structurale de la topoisomerase I de *M. tuberculosis*, l'agent étiologique de la maladie, en tant que possible cible pour le développement de nouvelles molécules. Contrairement à l'ADN gyrase, cible bien connue des fluoroquinolones (antibiotiques couramment utilisés y compris dans le traitement de la tuberculose) et qui fait l'objet de phénomènes de résistance, aucun inhibiteur spécifique de la topoisomerase I est disponible actuellement. Le groupe de V. Nagaraja a longtemps étudié l'enzyme de *M. tuberculosis*, pour lequel aucune structure tridimensionnelle n'est disponible, et montré son essentialité [1] ainsi ses caractéristiques spécifiques, notamment en ce qui concerne son domaine C-terminal impliqué dans le passage du brin au cours de la relaxation de l'ADN [2]. En outre, des molécules synthétisées par des chimistes également membres du consortium MM4TB se sont révélées capables d'inhiber l'enzyme avec une affinité de l'ordre du micromolaire (résultats non publiés). L'étudiant(e) sera donc intégré(e) à notre unité pour poursuivre la production, la purification et la caractérisation de la topoisomerase I mycobactérienne, par des techniques de biologie structurale (cristallographie, SAXS) et/ou biophysique (DLS, MALLS, ultracentrifugation analytique).

[1] Ahmed *et al.* (2014), *FEMS Microbiol. Lett.* 353 : 116-123.

[2] Ahmed *et al.* (2013), *Nucleic Acid Res.* 41: 7462-7471.

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

**Laboratoire:** Unité de Microbiologie Structurale, Institut Pasteur de Paris

**Adresse :** 25 rue du Dr. Roux, 75724 Paris cedex 15

**Responsable de stage :** Marco Bellinzoni

**Email :** marco.bellinzoni@pasteur.fr

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** ED436 / 'Médicament, Toxicologie, Chimie, Imageries' (MTCI), Université Paris Diderot

**Profil recherché:** Biochimiste/Biophysicien avec intérêt et motivation pour la biologie structurale

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** Contrat doctoral (allocation du ministère)

**Titre du stage :** Interactions protéine-protéine au sein d'un 'supercomplexe' métabolique

### Résumé :

Le cycle des acides tricarboxyliques, ou cycle de Krebs, est sans doute l'une des voies métaboliques les plus connues et les plus conservées. Malgré le fait que ce cycle ait été élucidé depuis près de 80 ans, il pourrait encore y avoir bien d'aspects à dénicher, notamment en ce qui concerne la régulation de certains enzymes ou leur organisation spatiale et temporelle. Par exemple, dans les années '80 des données avaient apparu soutenant l'hypothèse que certains des enzymes du cycle de Krebs pourraient être organisés en clusters, ou complexes multienzymatiques [1,2] mais aujourd'hui nous n'avons accumulé plus d'évidence.

Au laboratoire, en étudiant les voies de signalisation chez *Mycobacterium tuberculosis*, nous avons commencé à nous intéresser aux réactions de l' $\alpha$ -ketoglutarate, l'un des intermédiaires du cycle de Krebs où il est converti à succinyl-CoA par l'effet du complexe dit KDH ( $\alpha$ -ketoglutarate deshydrogénase). Malgré le complexe KDH avait été décrit comme absent chez *M. tuberculosis* car son activité n'avait pu être détectée [3], nous savons maintenant que non seulement cette activité peut être mesurée sous certaines conditions [4] mais aussi que ce complexe pourrait en réalité ne faire qu'un seul 'supercomplexe' avec PDH, le complexe de la pyruvate deshydrogénase, structuré de la même façon et impliqué dans la décarboxylation oxydative du pyruvate issu de la glycolyse. En effet, les deux complexes sont assemblés autour d'un noyau central fait de 24 ou 60 sous-unités du composant E2, et des données récentes suggèrent effectivement l'existence d'un seul supercomplexe chez *Corynebacterium glutamicum* [5]. Réunir les deux complexes KDH et PDH pourrait générer un assemblage multienzymatique de l'ordre des dizaines de MDa, avec un diamètre bien supérieur au ribosome et sans analogies chez d'autres organismes.

L'objectif de ce stage est d'étudier certaines des interactions protéine-protéine au sein de cet hypothétique complexe multienzymatique, sachant que nous sommes en train d'un côté d'essayer de le purifier le complexe entier de chez *C. glutamicum* (modèle pour les mycobactéries), de l'autre de cloner les gènes correspondants pour exprimer chaque composant comme protéine recombinante et reconstituer le complexe *in vitro*. L'étudiant(e) pourra donc aisément s'intégrer à ce projet pour purifier deux-trois de ces protéines et en étudier, en collaboration avec la plateforme de biophysique moléculaire de l'Institut Pasteur, leur assemblage, leur état d'oligomérisation et leurs interactions protéine-protéine par un éventail de méthodes de biophysique, à évaluer au cas par cas (DLS, MALLS, ultracentrifugation analytique, ITC, Biacore).

[1] Robinson, J.B. et Srere, P.A. (1985) *J. Biol. Chem.* 260: 10800-10805.

[2] Barnes, S.J. and Weitzman, P.D.J. (1986) *FEBS Lett.* 201: 267-270.

[3] Tian, J., Bryk, R., Itoh, M., Suematsu, M., et Nathan, C. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 10670-10675.

[4] Wagner, T., Bellinzoni, M., Wehenkel, A., O'Hare, H.M. et Alzari, P.M. (2011) *Chem. Biol.* 18: 1011-1020.

[5] Hoffelder, M., Raasch, K., van Ooyen, J., et Eggeling, L. (2010) *J. Bacteriol.* 192: 5203-5211.

## Comprehensive Analysis of the Fate of Nanoparticles in Lung

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

Name: Fanny Mousseau, Emek Seyrek  
E-mail: [mousseau.fanny@gmail.com](mailto:mousseau.fanny@gmail.com)  
E-mail: [emek.seyrek@univ-paris-diderot.fr](mailto:emek.seyrek@univ-paris-diderot.fr)

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

Affiliation: Université Paris-Diderot  
Lab Name : Laboratoire Matière et Systèmes Complexes  
Address : UMR 7057 Université Paris-Diderot/CNRS, Batiment Condorcet,  
10 rue Alice Domon et Léonie Duquet, F-75205 Paris Cedex 13

**Partners or collaborations :** Indicate the references of other researchers or labs involved in the project supervision.

Name: Berret Jean-François  
Phone: 01 57 27 61 47  
E-mail: [jean-francois.berret@univ-paris-diderot.fr](mailto:jean-francois.berret@univ-paris-diderot.fr)  
Affiliation: Laboratory Matière et Systèmes Complexes, Université Paris-Diderot

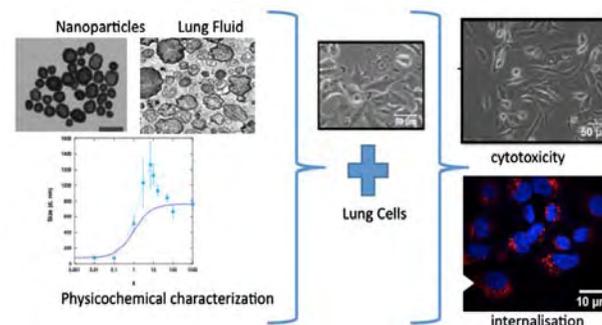
### Describe the team that the student will join for the project.

The intern will join a group of 6 researchers, composed of 1 PhD (Fanny Mousseau), 2 postdocs (Leticia Vitorazi, one to be hired) and 3 permanent positions. The permanent positions are an ANR awarded "Chaire d'excellence" (Emek Seyrek), a biology engineer (Carine Vias) and a CNRS scientist (Jean-François Berret).

Our research group develops novel functional nanostructures with stimuli-responsive features and biocompatibility. The particles, proteins and other biomacromolecules are elementary bricks of colloidal scaffolds designed for applications. Based on techniques of assembly using non-covalent interactions, this approach offers versatility and simplicity for the fabrication of novel nanomaterials with enhanced functionalities. A second objective of our research deals with the applications of these nanomaterials in medicine, biology and in environment. It includes their use as tools for imaging and therapy in living cells and tissues, as well as the study of their cyto- and genotoxicity. In this research, emphasis is put on key features such as interactions, localization and titration of nanomaterials in biological and natural environments.

### Project description :

The exposition of human lungs to nanoparticles by various means has raised an increased concern and consequently increased research to study the impacts on the related physiological functions. Many significant findings have been reported deciphering the effects of different components of lung fluid, which is the first biological environment that NPs encounter when they reach the lungs. Also, studies on the cytotoxic effects of NPs on lung epithelial cells are conducted to evaluate the fate of NPs in human body. Our approach is a more comprehensive method to study the interaction of nanoparticles with lung fluid, analyzing the new structures that form and evaluate the interaction of these new structures (nanoparticles with a lipidic corona and/or complex aggregates of lipid vesicles and NPs) with lung epithelial cells.



**Figure 1:** The different steps in the investigation of nanoparticles, lung fluid and cells

In this project, we will study different types of nanoparticles in different lung fluid preparations. The aims of the project are:

- 1) To decipher the structures and properties of complexes that form as a result of interaction of NPs with lung fluids, by physicochemical characterization techniques such as light scattering, differential sedimentation centrifuge and by microscopy techniques.
- 2) To study cytotoxicity and internalisation of the NPs and the aforementioned nanoparticle-lung fluid complexes by lung epithelial cells, using cell biology and microscopy techniques.

### Recent References on this work

N. Lewinski, V. Colvin and R. Drezek, *Small*, 2008, 4, 26-49.  
M. P. Monopoli, C. Aberg, A. Salvati and K. A. Dawson, *Nat. Nanotechnol.*, 2012, 7, 779-786.  
R. Landsiedel, L. Ma-Hock, A. Kroll, D. Hahn, J. Schnekenburger, K. Wiench and W. Wohlleben, *Adv. Mater.*, 2010, 22, 2601-2627.

**Contrast agents for stroke detection in mice using in vivo Magnetic Resonance Imaging (MRI)**

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

Name: Isabelle Margail / Nathalie Mignet  
Phone: 01 53 73 97 83 / 01 53 73 95 81  
E-mail: [isabelle.margail@parisdescartes.fr](mailto:isabelle.margail@parisdescartes.fr) / [nathalie.mignet@univ-paris5.fr](mailto:nathalie.mignet@univ-paris5.fr)

**Host Laboratory:** *Indicate the references of the laboratory where the work will be done.*

Affiliation: Université Paris Descartes  
Lab Name : Pharmacologie de la Circulation Cérébrale  
Address : EA4475 Pharmacologie de la Circulation Cérébrale  
Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques  
4 avenue de l'Observatoire  
75006 PARIS

**Partners or collaborations :** *Indicate the references of other researchers or labs involved.*

Name: Berret Jean-François  
Phone: 01 57 27 61 47  
E-mail: [jean-francois.berret@univ-paris-diderot.fr](mailto:jean-francois.berret@univ-paris-diderot.fr)  
Affiliation: Laboratory Matière et Systèmes Complexes, Université Paris-Diderot  
Address : UMR 7057 Université Paris-Diderot/CNRS, Batiment Condorcet,  
10 rue Alice Domon et Léonie Duquet, F-75205 Paris Cedex 13

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

The intern will work with a joint team from the Université René Descartes (Paris 5) and Université Denis Diderot (Paris 7). The expertise of the two groups is complementary in the fields of nano/bio materials, physical chemistry, Magnetic Resonance Imaging and stroke on mouse model. The originality of the present research is in the strong link with the Chemistry company **Specific Polymers** that provides us with up-to-date polymer coating.

At University Paris 7, the intern will join a group of 6 researchers, composed of 1 PhD (Fanny Mousseau), 2 postdocs (Leticia Vitorazi, one to be hired) and 3 permanent positions. The permanent positions are an ANR awarded "Chaire d'excellence" (Emek Seyrek), a biology engineer (Carine Vias) and a CNRS scientist (Jean-François Berret).

**Project description :**

Stroke is a leading cause of death worldwide for which clinicians lack therapeutic strategies. Due to occlusion of a cerebral vessel, ischemic stroke represents 80% of all registered cases. Therapeutics should be personalized based on the mechanisms that occur at the stroke inception for a better chance of success. Non-invasive follow-up of biomarkers with molecular imaging may thus provide a solution for adjusting the treatment. The goal of our project is to develop innovative particles for Magnetic Resonance Imaging (MRI) to detect post-stroke vascular inflammation, in particular the adhesion molecule VCAM-1 implicated in leukocyte infiltration.

1 - The first step of the project will be the bottom-up fabrication of advanced MRI nanoprobe using iron oxide nanoparticles and advanced polymers, both being synthesized by us. The particles will be rendered specific by the covalent coupling of a peptide targeting VCAM-1 at their surface.

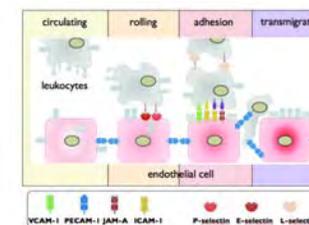


Figure 2: The sequential steps of leukocyte recruitment to sites of inflammation

2 - The second step consists in optimizing the MRI probes for later *in vitro* and *in vivo* assays. The optimization process takes into account the stability of the probes in biological fluids, their relaxivity contrast properties and the degree of peptide conjugation. Biodistribution of imaging probes will be then studied *in vivo* in mice to check the detectability and stealthiness and to optimize the MRI protocol.

3 - Finally probes that will have passed through the above subsequent filters will be tested in an *in vivo* model of stroke to visualize the extent of the damaged tissues and vessels.

The outcome of our project will be the knowledge of innovative particles for post-stroke vascular inflammation. The originality of the project lies in three main points: the shape of the particles, the polymer coating and the adapted MRI sequences. The project will give new insights on the relation between particle shape and size and their efficiency as contrast agent, biodistribution and targeting adhesion properties. Beyond, the innovative particles developed in the project will open new avenues in the detection of other pathologies.

**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)

## Biomechanics of cancer cells

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

Name: Berret Jean-François

Phone: 01 57 27 61 47

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

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

Affiliation: Université Paris-Diderot

Lab Name : Laboratoire Matière et Systèmes Complexes

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

**Partners or collaborations :** *Indicate the references of other researchers or labs involved in the project supervision.*

Name: Berret Jean-François

Leticia Vitorazi

Phone: 01 57 27 61 47

[leticia.vitorazi@univ-paris-diderot.fr](mailto:leticia.vitorazi@univ-paris-diderot.fr)

E-mail: [jean-francois.berret@univ-paris-diderot.fr](mailto:jean-francois.berret@univ-paris-diderot.fr)

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

Collaborations are underway with the Institut de Sciences des Matériaux in Mulhouse and from the Institut Curie in Paris

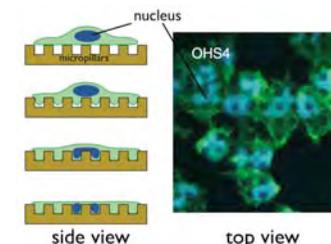
### Describe the team that the student will join for the project.

The intern will join a group of 6 researchers, composed of 1 PhD (Fanny Mousseau), 2 postdocs (Leticia Vitorazi, one to be hired) and 3 permanent positions. The permanent positions are an ANR awarded "Chaire d'excellence" (Emek Seyrek), a biology engineer (Carine Vias) and a CNRS scientist (Jean-François Berret).

Our research group develops novel functional nanostructures with stimuli-responsive features and biocompatibility. The particles, proteins and other biomacromolecules are elementary bricks of colloidal scaffolds designed for applications. Based on techniques of assembly using non-covalent interactions, this approach offers versatility and simplicity for the fabrication of novel nanomaterials with enhanced functionalities. A second objective of our research deals with the applications of these nanomaterials in medicine, biology and in environment. It includes their use as tools for imaging and therapy in living cells and tissues, as well as the study of their cyto- and genotoxicity. In this research, emphasis is put on key features such as interactions, localization and titration of nanomaterials in biological and natural environments.

### Project description :

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].

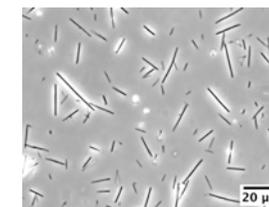


**Figure 1:** Osteosarcoma cells deform to adapt their environment, here patterned micropillars [1].

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. Veillet, 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 THÈSE »

Laboratoire : UMR8601 CNRS

Adresse : 45 rue des Saints-Pères

Responsable de stage : Gildas BERTHO

Email : [gildas.bertho@parisdescartes.fr](mailto:gildas.bertho@parisdescartes.fr)

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED 563 Médicament, Toxicologie, Chimie, Imageries (MTCI)

Profil recherché : RMN et Biostatistique

Possibilité de poursuite en thèse : Oui

Financement envisagé : CIFRE

Titre du stage : Recherche de bio-marqueurs de pathologies rares par RMN métabolomique

Résumé :

A travers un partenariat avec différents hôpitaux publics parisiens, vous serez chargé d'identifier les biomarqueurs de pathologies humaines par des outils innovants.

Une première étude pilote de métabolomique par RMN (collaboration Hôpital Européen G. Pompidou) a montré qu'il était possible de discriminer sur des urines le degré d'insuffisance rénale chronique (IRC), une pathologie qui affecte environ 2 Millions de Français.

Votre étude concernera des pathologies rares telles que la porphyrie (2) avec le Centre Français des Porphyries (Hôpital Louis Mourier), et des désordres métaboliques chez l'enfant ou le nourrisson (Hôpital Necker). Votre projet de stage consistera à identifier de façon efficace les biomarqueurs de ces pathologies et à participer au développement de nouveaux outils bio-informatiques. Vous serez amené à travailler sur deux grands axes :

1) Analyse d'échantillons humains (Plasma, Urine) par spectroscopie RMN

2) Analyse de données complexes (data-mining) : classification, identification et validation de bio-marqueurs en utilisant des outils bio-informatiques.

L'enthousiasme et la motivation du candidat sont un moteur essentiel dans ce projet. Une formation initiale du doctorant aux outils de mesure et d'analyse pourra être assurée par le laboratoire d'accueil.

Contact :

Dr [Gildas BERTHO](#)

UMR8601 CNRS

CICB – Paris (FR 3567)

Université Paris Descartes

45 rue des saints-pères

75006 Paris, FRANCE

Tel : +33-(0)1-42-86-21-80

Email : [gildas.bertho@parisdescartes.fr](mailto:gildas.bertho@parisdescartes.fr)

---

(1) Pallet, N.; Thervet, E.; Beaune, P.; Karras, A.; Bertho, G. The Urinary Metabolome of Chronic Kidney Disease. *Kidney international* 2014, 85, 1239–1240

(2) Carichon, M.; Pallet, N.; Schmitt, C.; Lefebvre, T.; Gouya, L.; Talbi, N.; Deybach, J. C.; Beaune, P.; Vasos, P.; Puy, H.; Bertho, G.\* Urinary Metabolic Fingerprint of Acute Intermittent Porphyria Analyzed by <sup>1</sup>H NMR Spectroscopy. *Analytical chemistry* 2014, 86, 2166–2174

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire : Laboratoire Photonique Numérique et Nanosciences (LP2N) – Institut d'Optique d'Aquitaine (IOA)**

**Adresse : rue Mitterrand, 33400 Talence – Bordeaux**

**Responsable de stage : Andrea Bertoldi ou Philippe Bouyer**

**Email : [andrea.bertoldi@institutoptiq.fr](mailto:andrea.bertoldi@institutoptiq.fr) ou [philippe.bouyer@institutoptiq.fr](mailto:philippe.bouyer@institutoptiq.fr)**

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

**Profil recherché : étudiant Master 2**

**Possibilité de poursuite en thèse : OUI**

**Financement envisagé : OUI**

**Titre du stage : Piège dipolaire combiné dans un résonateur optique / mesure non classique des états atomiques à l'aide de la cavité optique**

**Dates de démarrage : Le stage peut démarrer dès Jan. 2015 ou plus tard.**

**Résumé :**

L'expérience BIARO (acronyme pour condensation de Bose-Einstein et Interférométrie Atomique dans un Résonateur Optique de haute finesse) a pour but d'utiliser un condensat de Bose-Einstein pour des expériences d'interférométrie atomique avec une sensibilité au-delà de la limite standard du bruit de projection quantique. La cavité optique permet d'augmenter le couplage entre les atomes et la radiation optique, qui doit permettre d'améliorer les mesures de détection non destructive et de réaliser des états atomiques comprimés.

Dans la cavité optique en anneau les deux faisceaux se croisent au centre, permettant d'obtenir un confinement optique fort dans les trois directions de l'espace. Un laser fibré à 1560 nm pompe le résonateur de haute finesse pour atteindre le niveau de puissance nécessaire pour la piège dipolaire. Des atomes de rubidium ont déjà été piégés au centre de la cavité dans le mode transversal fondamental (TEM<sub>00</sub>), en obtenant une piège unique, ainsi que dans les modes d'ordre supérieur, permettant de réaliser simultanément plusieurs pièges (par exemple 4 pour TEM<sub>10</sub>, 9 pour TEM<sub>20</sub>) [1]. Nous avons déjà obtenue la condensation de Bose-Einstein dans le TEM<sub>00</sub> et travaillons actuellement à l'obtention d'un réseau de condensats en utilisant les modes d'ordres plus élevés de la cavité. Des mesures non destructives préliminaires ont été effectuées sur des atomes lâchés d'un piège magnéto-optique ou piégés dans le piège dipolaire. Ils ont ainsi permis de suivre l'évolution d'un interféromètre de manière faiblement destructive [2], et plus récemment de protéger un ensemble d'atomes contre la décohérence induite par une perturbation externe en utilisant une rétroaction [3].

Un premier sujet du stage porte sur l'étude et l'implémentation expérimentale d'un nouveau type de piège dipolaire dans lequel le déplacement lumineux différentiel de la transition D<sub>2</sub> sur les atomes par le laser à 1560 nm est modelé par un second laser à 1529 nm. La combinaison des deux lasers sera utilisée afin d'obtenir un piège optique chargé en continu, avec une région au centre où un fort déplacement lumineux permet de protéger les atomes du chauffage lié à la diffusion multiple de photons. Ça permettra d'obtenir des échantillons atomiques piégés de très hautes densité optique, et donc un point de départ optimal pour générer des condensats atomiques dans le piège dipolaire.

Un deuxième sujet de stage porte sur l'interrogation des états atomiques à l'aide d'une sonde photonique asservi à la cavité optique, qui permettra de surpasser le régime classique d'incertitude de mesure et d'atteindre des états atomiques non classiques ou comprimés.

[1] A. Bertoldi et al., Opt. Lett. 35, 3769 (2010).

[2] S. Bernon et al., New J. Phys. 13, 065021 (2011).

[3] T. Vanderbruggen et al., Phys. Rev. Lett. 110, 210503 (2013).

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire :** IBENS

**Adresse :** Département de Biologie, École Normale Supérieure, 46 rue d'Ulm 75005 Paris

**Responsable de stage :** Bourdieu Laurent, 01 44 32 37 34

**Email :** [laurent.bourdieu@ens.fr](mailto:laurent.bourdieu@ens.fr),

**N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement :** École doctorale 3C, N°158

**Profil recherché :** Physicien ayant une bonne formation en optique instrumentale, intéressé par la biologie et plus spécialement par les neurosciences

**Possibilité de poursuite en thèse :** Oui

**Financement envisagé :** Bourse du ministère

**Titre du stage :** Adaptive optics for biomicroscopy

## Résumé :

In biological imaging applications, wavefront distortions limit the signal intensity and contrast in deep imaging. These distortions are due to refractive index mismatches (e.g. between water and tissue for water immersion objectives) and to inhomogeneity within the specimen. This is observed in confocal microscopy, in multi-photon microscopy as two-photon fluorescence (TPFM) or in full-field Optical Coherence Tomography (ff-OCT). With an Adaptive Optics (AO) system, the wavefront of illumination can be in principle shaped with a deformable mirror (DM) to compensate for the distortion, so that a diffraction-limited focus is restored. However, the measurement of the distorted wavefront in the tissue in order to find the optimal shape of the DM is not straightforward in strongly scattering biological samples.

Therefore, several AO schemes that don't require the measurement of the aberrated wavefront have been proposed. In this project, we intend to implement stochastic methods based upon genetic algorithms to optimize image quality in a combined TPFM/ff-OCT microscope. Optimization will be performed on images acquired in anaesthetized mice. TPFM will be optimized on images of GAD65 mice, where inhibitory cortical neurons are fluorescently labeled. ff-OCT images will be obtained from the endogenous contrast originating from myelinated axons. Comparison of aberrations measured with both modalities will be made, as well as the characterization of aberrations as a function of depth in the tissue. Improvements in image quality and penetration depth will be analyzed. The possibility to use ff-OCT to correct TPFM images will be finally explored, as photobleaching of fluorescence images during AO optimization is a major drawback of such algorithms.

## Références

- Wang J., Leger J.-F., Binding J., Boccara C., Gigan S., Bourdieu L., *Measuring aberrations in the rat brain by coherence-gated wavefront sensing using a Linnik interferometer*, Biomed. Opt. Exp. (2012) 3(10) 2510-2425.
- J. Ben Arous, J. Binding, J.-F. Léger, M. Casado, S. Gigan, C. Boccara, L. Bourdieu. *Single myelin fiber imaging in living rodents without labeling by deep optical coherence microscopy* J. Biomed. Opt. 16(11) (2011) 116012.
- J. Binding, J. Ben Arous, J.-F. Léger, S. Gigan, C. Boccara and L. Bourdieu. *Brain refractive index measured in vivo with high-NA defocus-corrected full-field OCT and its consequence on two-photon microscopy*. Opt. Express, 19(6) (2011) 4833-47.

## « PROPOSITION DE STAGE M2 »

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

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

**Responsable de stage :** Alexandre BOUTORINE, Professeur du Muséum

**Email :** alexandre.boutorine@mnhn.fr

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

**Profil recherché :** Biophysique, chimie bioorganique, biologie moléculaire

**Possibilité de poursuite en thèse :** Oui

**Financement envisagé :** Gratification du MNHN

**Titre du stage :**

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

Récemment, nous avons commencé à développer de nouvelles sondes basées sur des polyamides - ligands du petit sillon de l'ADN (LPS). Ils sont composés de dérivés de N-méthylpyrroles et N-méthylimidazoles. Ils reconnaissent spécifiquement des séquences d'ADN natif en interagissant au sein de son petit sillon. Nous avons étudié l'interaction des polyamides avec leur cible, effectué leur couplage à des fluorophores commerciaux et synthétiques, et sélectionné les meilleures sondes pour les applications cellulaires. Actuellement, nous possédons plusieurs polyamides de structures différentes qui sont couplés à différents fluorophores. Malgré des résultats prometteurs, quelques problèmes majeurs sont à souligner : l'affinité des sondes diminue 10 à 20 fois après leur couplage aux fluorophores et la plupart des sondes s'agrège autour du noyau dans les cellules vivantes. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec des dérivés de la fluoresceine isothiocyanate même si leur affinité a également été affectée par le couplage au fluorophore. Les règles structurales de construction de ligands ayant une bonne spécificité et activité et qui pénètrent bien dans le noyau des cellules vivantes ne sont pas encore élucidées.

Le but de ce projet est donc d'optimiser la méthode de synthèse, la structure et les propriétés des nouvelles sondes afin d'observer l'ADN dans des cellules vivantes. Au niveau de la structure, nous allons optimiser la construction des LPS et leur architecture (surtout, la structure et la charge ionique des polyamides, la structure des fluorophores et du bras de liaison entre le ligand et le fluorophore) afin d'obtenir une meilleure interaction avec l'ADN cible modèle (un fragment d'une répétition centromérique murine ou humaine). Au niveau de la méthode de synthèse, nous allons appliquer différents protocoles de couplage, dont la "chimie-click" dans un réacteur à micro-ondes en utilisant des fluorophores nouveaux qui ont été obtenus dans le cadre de nos collaborations avec des laboratoires en France, Nouvelle Zélande et Ukraine. Le travail du stage de M2 consiste en: (1) la construction et la synthèse de plusieurs polyamides de structure variée afin d'améliorer leur affinité pour l'ADN cible; (2) leur couplage à des nouveaux fluorophores de type cyanine, rhodamine, coumarine etc ; (3) l'étude de leur interaction avec l'ADN cible modèle *in vitro* par des méthodes physico-chimiques et (4) l'étude de leur interaction avec l'ADN directement dans des cellules vivantes. Méthodologies utilisées : synthèse bioorganique, spectroscopie de masse, HPLC, spectroscopies d'absorption et fluorescente, dénaturation thermique de complexes "ADN-ligand", dichroïsme circulaire, électrophorèse en gel d'acrylamide et autres méthodes biophysiques.

# UNRAVELING THE PHYSICS OF TISSUE GROWTH

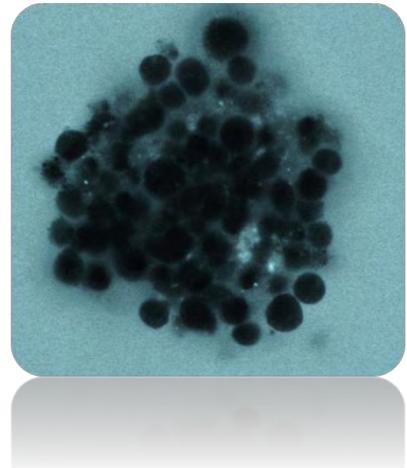
*Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (Equipe MOTIV) – Université Joseph Fourier – Grenoble*

## OBJECTIVE

The project aims at describing and modeling the mechanics of growing tumors.

## CONTEXT

Tumors escape to any univocal classification, in terms of mechanics. A **growing tumor is elastic** on short timescale (minute) and **viscous** on longer timescale, due to the local cellular rearrangement allowed by cell division and death. The tumor **actively changes its stiffness and size**, when submitted to a deformation or stress; **its cells collectively flow** and build up an active mechanical stress. In addition, biological tissues are **porous** to fluids, proteins, growth factor and wreckage of dead cells, but also bear some similarities with **composite materials**, because the cells are embedded in a stiff, but somehow **plastic**, extracellular matrix.



## INTERNSHIP

We propose to track the cells position inside a growing tumor in 3D and in real time. Based on those experimental observations, we will build up a theoretical description of the tumor as an “active material” and a predictive model to describe the cellular motion inside the tumor tissue.

**Task 1:** Observe in real time the local rearrangement of cells, inside a model tumor submitted to a mechanical perturbation.

**Task 2:** Determine the mechanism, by which cell divisions and cell deaths fluidize the tumor.

**Task 3:** Determine whether the cells active modulate their volume, after exposure to an external compressive stress and the role of the extracellular matrix in response to a compressive stress.

## KEYWORDS

Physique du cancer, Interface physique-biologie, Rhéologie des systèmes actifs

## COLLABORATIONS

Institut Langevin (ESPCI) : C. Boccara and C.-E. Leroux  
Physico-Chimie-Curie (Institut Curie) : J. Prost, J.-F. Joanny

## SUPERVISOR

Giovanni Cappello ([Giovanni.Cappello@ujf-grenoble.fr](mailto:Giovanni.Cappello@ujf-grenoble.fr)) +33 (0)616 208 511

# «PROPOSITION DE STAGE ET/OU THESE»

**Laboratoire** : Laboratoire de Physique, ENS Lyon

**Adresse** : Laboratoire de Physique, ENS LYON, 46 Allée d'Italie, 69364 Lyon, FRANCE

**Responsable de stage** : Martin Castelnovo (CR1 HDR CNRS)

**Email** : martin.castelnovo@ens-lyon.fr

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

ED 52 - Ecole Doctorale de Physique et d'Astrophysique (PHAST) Lyon

**Profil recherché** : Physicien théoricien à l'interface physique-biologie- méthodes analytiques et numériques

**Possibilité de poursuite en thèse** : oui

**Financement envisagé** : MENRT

**Titre du stage** : « Modeling self-assembly of HIV-1 conical capsid »

**Résumé** : Un virus est une entité biologique relativement simple en apparence : pour un grand nombre de familles de virus, il est constitué d'un bagage génétique (ARN, ADN ou chromatine) et d'une enveloppe protéique de protection (appelée « capsid »). Le cycle viral constitue une succession d'étapes moléculaires de désassemblage puis de réassemblage. Dans le cas des rétrovirus, dont HIV-1 l'agent pathogène responsable du SIDA est un des représentants principaux, le processus d'assemblage requiert plusieurs étapes distinctes (dont le bourgeonnement et la maturation) et est relativement complexe.

Dans ce stage de modélisation, nous nous intéresserons à l'étape de maturation du virus, qui permet de former une capsid de forme conique autour du génome en partant d'une capsid initiale quasiment sphérique. Plusieurs scénarios alternatifs ont été proposés pour expliquer qualitativement ces observations : croissance de la capsid dans une région confinée, influence du génome dans la croissance de la capsid, courbure spontanée des protéines proche d'une valeur critique. L'objectif du stage est de développer des modèles quantitatifs correspondant aux scénarios proposés, afin de pouvoir les comparer et d'identifier le scénario le plus probable. Les conclusions obtenues seront resituées dans le contexte biologique en interagissant avec des collaborateurs virologues.

Les modèles développés utiliseront à la fois des méthodes analytiques et numériques.

**More informations** :

<http://perso.ens-lyon.fr/martin.castelnovo>

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : IGBMC / UMR  
7104 / Strasbourg

Adresse : 1 Rue Laurent  
Fries, 67400 Illkirch

Responsable(s) de Stage : Gilles Charvin

Téléphone : 03 88 65 35 88

Email : charvin@igbmc.fr

N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées : **École doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé**

**Titre du stage : Imagerie quantitative ratiométrique pour suivre en temps réel l'état d'oxydation des mitochondries au cours du vieillissement cellulaire**

### Résumé :

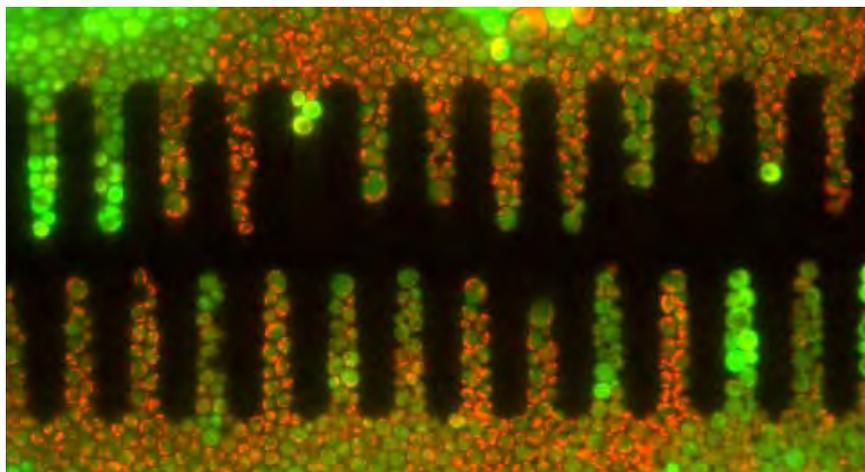
Le vieillissement des organismes vivants s'accompagne de l'incidence croissante de maladies comme le cancer ou les maladies neuro-dégénératives. De très grands efforts de recherche portent sur l'identification des mécanismes moléculaires qui contrôlent ce processus fondamental.

Chez la levure, un unicellulaire eucaryote, une cellule peut accomplir environ 25 divisions avant d'entrer en sénescence et de mourir. De part sa simplicité d'utilisation, cet organisme fournit un cadre idéal pour essayer de comprendre les processus qui limitent la longévité des cellules.

Dans ce contexte, nous avons développé au laboratoire une technique pour suivre les divisions successives d'une même cellule de sa naissance à sa mort par imagerie de fluorescence quantitative. Cette méthode repose sur l'utilisation d'un dispositif microfluidique qui permet de piéger des cellules individuelles tout en observant leur capacité proliférative.

Dans le cadre du stage, nous utiliserons une nouvelle sonde de fluorescence développée par des collaborateurs de Heidelberg (Tobias Dick, DKFZ) pour suivre l'évolution de l'état redox des mitochondries dans des cellules vieillissantes. Cette méthode, basée sur une mesure ratiométrique de deux longueurs d'onde, permettra de mettre en évidence de manière directe et quantitative le lien éventuel entre super-oxydation des mitochondries et l'entrée en sénescence.

Mots clefs : microfluidique, imagerie de fluorescence, division cellulaire, vieillissement, levure.



# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire:** Laboratoire Interdisciplinaire sur l'Organisation Nanométrique et Supramoléculaire

**Adresse :** CEA Saclay – DSM/IRAMIS/NIMBE/LIONS – Bât. 125  
91191 Gif-usr-Yvette cedex

**Responsable de stage :** Corinne Chevallard

**Email :** corinne.chevallard@cea.fr

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

**Profil recherché:** Le candidat devra avoir un bon niveau théorique en physique et chimie générale, être capable de réaliser un travail expérimental avec une grande rigueur et être ouvert à des collaborations interdisciplinaires.

**Possibilité de poursuite en thèse :** Non

**Financement envisagé :** ANR

**Titre du stage :** Synthèse bio-inspirée de carbonate de calcium : vers une compréhension des mécanismes de biominéralisation

## **Résumé :**

En bref : L'étude de la minéralisation chez les organismes vivants, ou « biominéralisation », sera menée grâce au développement de systèmes modèles physico-chimiques. Les expériences réalisées auront pour but de caractériser les étapes de structuration du minéral au cours du temps, notamment quand un transitoire amorphe apparaît.

Objectif scientifique : Les organismes vivants ont la capacité de produire des structures minérales, ou « tissus durs » (dents, os, exosquelettes, etc.), dont les formes et propriétés mécaniques sont totalement adaptées à la fonctionnalité biologique ciblée. La compréhension fine des mécanismes de biominéralisation est activement recherchée car elle est un pré-requis au développement de voies de synthèse bio-inspirées permettant l'élaboration de nouveaux matériaux avec un très faible apport énergétique. Trois traits caractéristiques de la biominéralisation calcaires ont d'ores et déjà été identifiés : (i) la précipitation de la phase minérale s'effectue toujours sous le contrôle de macromolécules organiques ; (ii) une phase minérale amorphe apparaît transitoirement et serait à l'origine des morphologies complexes observées ; (iii) tous les biocristaux calcaires présentent une nanostructuration, et semblent ainsi résulter d'un assemblage de nanoparticules.

Nous nous proposons d'utiliser le point de vue de la physico-chimie pour comprendre les mécanismes génériques de la biominéralisation [1]. Plus spécifiquement, nous voulons suivre la réaction de cristallisation du carbonate de calcium en présence de molécules organiques extraites d'une structure biominérale, la coquille d'huître perlière, et trouver les conditions de synthèse qui reproduisent au mieux les conditions biologiques d'élaboration du minéral, en variant les différents paramètres du système minéralisant (concentrations des sels minéraux, de la phase organique, composition de la phase organique). Nous nous concentrerons en particulier sur les conditions qui induisent la formation d'un transitoire minéral amorphe. La structure minérale sera caractérisée tout au long de sa formation aux échelles macro-, micro- et nanométriques par le recours à différents techniques d'analyse : diffusion X, microscopie optique, électronique (SEM, TEM) et infrarouge. Par ailleurs, nous envisagerons l'utilisation d'un dispositif microfluidique de cristallisation afin d'effectuer un mélange rapide et reproductible des espèces et de réduire la quantité de matériel organique nécessaire aux expériences.

[1] Y.-H. Tseng, C. Chevallard, Y. Dauphin, P. Guenoun, CrystEngComm (2014), 16, 561-569.

Contexte : Ce stage se déroulera dans le cadre d'un projet développé en collaboration avec des géologues de l'IDES (UMR8148) et soutenu par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR).

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire:** Institut Charles Gerhardt UMR 5253, Equipe MACS

**Adresse :** UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques  
15 avenue Charles Flahault - BP 14 491  
34093 Montpellier cedex 05 - FRANCE

**Responsable de stage :** Joel Chopineau <http://www.macs.icgm.fr/-Joel-Chopineau->

**Email :** joel.chopineau@unimes.fr

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** CBS2 Biologie Santé EDA 168

**Profil recherché:** Biochimie Biophysique

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** concours ED 168

**Titre du stage :** Plateforme biomimétique pour étudier la translocation de protéines.

## Résumé :

Nous développons des outils pour étudier l'interaction des nanoparticules; des protéines et des médicaments avec les membranes. Nous avons mis au point le premier système biomimétique permettant de suivre la translocation calcium et voltage dépendante d'une toxine bactérienne (CyaA) sur un support d'or plan. (*PNAS*, 2013).

CyaA est une toxine bactérienne produite par *Bordetella pertussis*. Cette protéine est capable de pénétrer dans les cellules eucaryotes cibles où, activée par la calmoduline, elle synthétise activement de l'AMP cyclique altérant ainsi le métabolisme cellulaire. L'acylation de la protéine et la liaison de calcium sont nécessaires pour permettre l'association de la toxine avec la membrane des cellules cibles ainsi que l'internalisation de son domaine catalytique. Cette molécule est un objet particulièrement attractif pour tenter de comprendre les bases physico-chimiques du transport de polypeptides au travers d'une bicouche lipidique.

Les propriétés de liaison obtenues pour CyaA et ses fragments avec un modèle de membrane supportée reflètent les résultats des tests. Nous avons notamment montré une interaction et une fixation dépendante du calcium et une translocation dépendante du calcium et dépendante du potentiel transmembranaire.

Le but de ce stage sera :

- de suivre le passage de CyaA dans le compartiment trans-membranaire par des mesures de l'activité adénylate cyclase.
- d'étudier les conditions de potentiel et de composition de la membrane permettant la translocation.

Techniques utilisées : Spectrophotométrie, Fluorescence, Résonance plasmonique de surface, électrophysiologie.

## References

Rossi C, Chopineau J. (2007) Biomimetic lipid membranes designed for membrane-protein interaction studies. *Eur. Biophys. J.*36, 955-965.

Rossi, C., Doumiati, S., C. Lazzarelli, D., Davi, M., Meddar, F., Ladant, D. and Chopineau, J. (2011) A tethered bilayer assembled on top of immobilized calmodulin to mimic cellular compartmentalization *PLoS ONE* 6(4): e19101.

Veneziano R, Rossi C, Chenal A, Devoisselle JM, Ladant D, Chopineau J. (2013) "Bordetella pertussis adénylate cyclase toxin translocation across a tethered lipid bilayer" *Proc Natl Acad Sci U S A.* 110(51), 20473-8

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : PMMH-ESPCI

Adresse : 10 rue Vauquelin 75005 Paris

Responsable de stage : Eric Clement  
Collaboration : Carine Douarche LPS Orsay

Email : eric.clement@upmc.fr

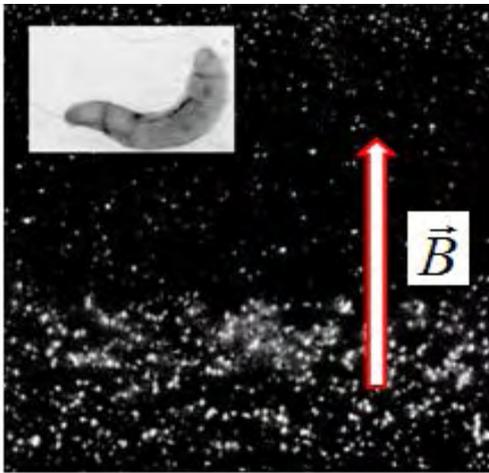
N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED Physique Ile de France

Profil recherché : taste for interface Physic/biology

Possibilité de poursuite en thèse : Yes

Financement envisagé :

Titre du stage : Driving magnetotactic bacteria through microfluidic models



*Density wave of magnetotactic bacteria (*Magnetospirillum gryphiswaldense*) driven by a magnetic field. This micro-organism which synthesizes small ferrite magnets (see inset), is sensitive to the direction of the magnetic field.*

Future developments in bio-technologies involving microorganisms, demand a fundamental understanding of the novel emerging transport properties under flow in heterogeneous environments. Our group has worked on the hydrodynamics of bacterial fluids and set up several experimental studies using micro-fluidic devices, suited to understand the fluid properties modifications due to the presence of microscopic swimmers (activated Brownian motion, viscous response, anomalous transport in confined flows etc...). The central question of this thesis is the transport of magnetotactic bacteria through a microfluidic model of porous material. This last micro-organisms can be driven in a flow using a magnetic field. The possible application of this study is the vectorization of these swimming organisms in order to deliver chemicals or drugs in various biological networks.

Selected 3 recent publications in the field

- J.GACHELIN, A.ROUSSELET, A.LINDNER, E.CLEMENT, Collective motion in E. coli bacteria suspensions, New Journal of Physics, **16**, 025003 (2014).
- J.GACHELIN, G.MINO, H. BERTHET, A.LINDNER, A.ROUSSELET, E. CLEMENT, Non-Newtonian active viscosity of E-coli suspensions, Phys. Rev. Lett. **110**, 268103 (2013).
- G. MINO, T. E. MALLOUK, T. DARNIGE, M. HOYOS, J. DAUCHET, J. DUNSTAN, R.SOTO, Y.WANG, A. ROUSSELET, E. CLEMENT Enhanced diffusion due to active swimmers at a solid surface Phys.Rev.Lett. **106**, 048102 (2011).

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire : Physico-Chimie Curie CNRS UMR168**

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

**Responsable(s) de Stage : M. Coppey/ A. Remorino**

**Téléphone : 01 56 24 67 54 – Email : [amanda.remorino@curie.fr](mailto:amanda.remorino@curie.fr), [mathieu.coppey@curie.fr](mailto:mathieu.coppey@curie.fr)**

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

**Titre du stage: Cellular mapping at the molecular scale of RhoGTPases signaling patterns**

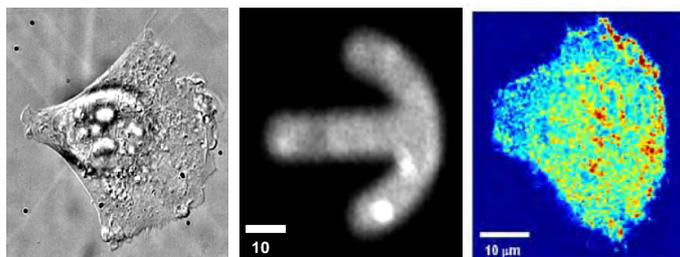
Cells constantly monitor their physical and chemical environment to decide their future behavior. All the molecular information coming from the outside world converges to an internal circuitry made of signaling components which is processing and evaluating this information to perform adapted responses. The RhoGTPase proteins are small interrupters which shuttle between inactive and active forms. They are at the bottleneck of signal transduction, collecting the activity of various receptors to control the cellular morphology and dynamic architecture. The spatiotemporal patterns of activity display rich behaviors which can be taught as “cellular encephalograms”.

Our goal is to understand how the activity maps observed at the cellular scale are regulated at the molecular level and to identify how information is encoded into such spatiotemporal patterns of biochemical activity. We focus on cell polarity and migration as a model system. We used various microscopy techniques to image the RhoGTPases activities, such as FRET biosensors, PALM super-resolution, and single molecule tracking. We combine these imaging tools with optogenetic controlled perturbations of RhoGTPases and engineered distribution of adhesive proteins to control cell shape.

Previous results showed us that there is a relationship between activation of the RhoGTPase Rac1 and its diffusivity in the cell membrane. The goal of this internship will be to determine Rac1 profiles of activation and compare it to PALM images and diffusivity maps. These results will aid the determination of molecular parameters defining Rac1 activity.

We are looking for a highly motivated candidate to participate to this experimental project. A background in biophysics, as well as some knowledge of optical microscopy and cell culture, are desirable but not mandatory.

*Figure: fibronectin micro-patterns are used to impose well-defined polarized cell states. (left) Cos-7 cell plated on a (middle) crossbow fibronectin micro-pattern. (right) Raichu-Rac1 FRET biosensor image which show the gradient of activation from the back to the front of the cell.*



**Recent reference of the host lab: F.Etoc, et al., Nature Nanotech (2013)**

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Physico-Chimie Curie CNRS UMR168

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

Responsable(s) de Stage : M. Coppey/ A. Remorino

Téléphone : 01 56 24 67 54 – Email : [amanda.remorino@curie.fr](mailto:amanda.remorino@curie.fr), [mathieu.coppey@curie.fr](mailto:mathieu.coppey@curie.fr)

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

**Titre du stage: Cellular mapping at the molecular scale of RhoGTPases signaling patterns**

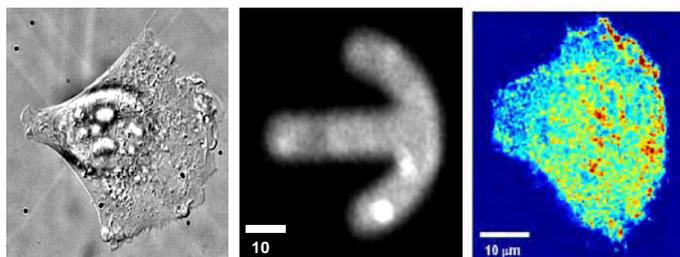
Cells constantly monitor their physical and chemical environment to decide their future behavior. All the molecular information coming from the outside world converges to an internal circuitry made of signaling components which is processing and evaluating this information to perform adapted responses. The RhoGTPase proteins are small interrupters which shuttle between inactive and active forms. They are at the bottleneck of signal transduction, collecting the activity of various receptors to control the cellular morphology and dynamic architecture. The spatiotemporal patterns of activity display rich behaviors which can be taught as “cellular encephalograms”.

Our goal is to understand how the activity maps observed at the cellular scale are regulated at the molecular level and to identify how information is encoded into such spatiotemporal patterns of biochemical activity. We focus on cell polarity and migration as a model system. We used various microscopy techniques to image the RhoGTPases activities, such as FRET biosensors, PALM super-resolution, and single molecule tracking. We combine these imaging tools with optogenetic controlled perturbations of RhoGTPases and engineered distribution of adhesive proteins to control cell shape.

Previous results showed us that there is a relationship between activation of the RhoGTPase Rac1 and its diffusivity in the cell membrane. The goal of this internship will be to determine Rac1 profiles of activation and compare it to PALM images and diffusivity maps. These results will aid the determination of molecular parameters defining Rac1 activity.

We are looking for a highly motivated candidate to participate to this experimental project. A background in biophysics, as well as some knowledge of optical microscopy and cell culture, are desirable but not mandatory.

*Figure: fibronectin micro-patterns are used to impose well-defined polarized cell states. (left) Cos-7 cell plated on a (middle) crossbow fibronectin micro-pattern. (right) Raichu-Rac1 FRET biosensor image which show the gradient of activation from the back to the front of the cell.*



**Recent reference of the host lab:** F.Etoc, et al., Nature Nanotech (2013)

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Unité Récepteurs-Canaux, Institut Pasteur, CNRS UMR 2182

Adresse : : 25 rue du Docteur Roux, 75015 Paris

Responsable de stage : Pierre-Jean Corringer

Email : [pjcorrin@pasteur.fr](mailto:pjcorrin@pasteur.fr)

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED3C, ED n°158

Profil recherché : Biochimie/Biophysique

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : bourse ministère

**Titre du stage : Mécanismes d'activation des récepteurs-canaux pentamériques explorés par marquages fluorescents utilisés comme des rapporteurs conformationnels. (stage M2)**

### Résumé :

Les récepteurs-canaux pentamériques (RCPs) tels que les récepteurs nicotiques, glycine et GABA<sub>A</sub> jouent un rôle primordial dans les communications neuronales dans le cerveau. Ces protéines membranaires intégrales combinent plusieurs sites de liaison aux neurotransmetteurs et un canal ionique transmembranaire, la liaison d'agoniste provoquant l'ouverture rapide du canal (activation), puis sa fermeture lente (désensibilisation).

Nous avons cloné le premier RCP bactérien, l'homologue GLIC de la cyanobactérie *Gloeobacter violaceus* qui fonctionne comme un canal ionique activé par les protons (Bocquet et al, Nature 445:116-119 2007). L'origine procaryote de GLIC nous a permis sa production en milligramme chez *E. coli* et sa purification en détergent, conduisant à sa résolution structurale par cristallographie en collaboration avec l'équipe de Marc Delarue, un structuraliste travaillant à l'Institut Pasteur. GLIC a été résolu dans 3 conformations correspondant aux états de repos (Sauguet 2014), intermédiaire (Prévost 2012) et actif (Bocquet et al, Nature 457:111-4 2009). La comparaison de ces structures permet de proposer un mécanisme moléculaire de l'activation. Cependant, les données cristallographiques sont recueillies dans un environnement artificiel, sur une protéine solubilisée en détergent engagée dans un réseau cristallin. Le projet de M2 vise à mesurer les changements conformationnels de la protéine libre de contraintes structurales et enchâssée dans une bicouche lipidique, i.e., dans son environnement physiologique.

Dans ce but, des cystéines seront introduites dans des endroits charnières de la protéine, suivi de réactions spécifiques avec des réactifs fluorescents. La fluorescence étant dépendante du microenvironnement, sa mesure en présence ou en absence d'agoniste (le proton) permettra de suivre localement les changements structuraux. Ces expériences seront complétées par des approches de transfert de fluorescence ou de « quenching » en

introduisant des couples de fluorophores. La fluorescence sera collectée dans des cuvettes sur la protéine purifiée en détergent ou bien reconstituée dans des bicouches lipidiques de composition choisie. Si le temps le permet, la protéine sera directement exprimée à la surface des cellules vivantes et les changements de fluorescence seront suivis par microscopie confocale. Ces données seront comparées aux données fonctionnelles par électrophysiologie qui mesurent l'ouverture du canal en temps réel.

La connaissance des mécanismes moléculaires de la dynamique des RCPs contribuera à mieux comprendre l'action des composés thérapeutiques ciblés sur les RCPs (nicotine, anesthésiques généraux, alcool, anxiolytiques, etc.) et l'effet des mutations naturelles causant des myasthénies et épilepsies congénitales.

Sauguet L, Shahsavari A, Poitevin F, Huon C, Menny A, Nemeček A, Changeux JP, Corringer PJ, Delarue M (2014). Crystal structures of a pentameric ligand-gated ion channel provide a mechanism for activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 111:966-971.

Prevost, M. S, Moraga-Cid, G, Van Renterghem, C, Edelstein, S. J, Changeux, J-P, Corringer PJ (2013). Intermediate closed state for glycine receptor function revealed by cysteine cross-linking. *Proc Nat Acad Sci U S A* 110:17113–17118.

Prevost, M. S, Sauguet, L, Nury, H, Van Renterghem, C, Huon, C, Poitevin F, Baaden M, Delarue M, Corringer PJ (2012). A locally closed conformation of a bacterial pentameric proton-gated ion channel. *Nat Struct Mol Biol* 19:642-649.

Duret, G, Van Renterghem, C, Weng, Y, Prevost, M., Moraga-Cid, G, Corringer PJ (2011). Functional prokaryotic-eukaryotic chimera from the pentameric ligand-gated ion channel family. *Proc Nat Acad Sci U S A* 108:12143–12148.

Nury, H, Van Renterghem, C, Weng, Y, Tran, A, Baaden, M, Sonner J, Delarue M, Corringer PJ (2011). X-ray structures of general anaesthetics bound to a pentameric ligand-gated ion channel. *Nature*, 469: 428–431.

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Physico-Chimie Curie CNRS UMR168

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

Responsable(s) de Stage : M. Dahan/ B. Hajj

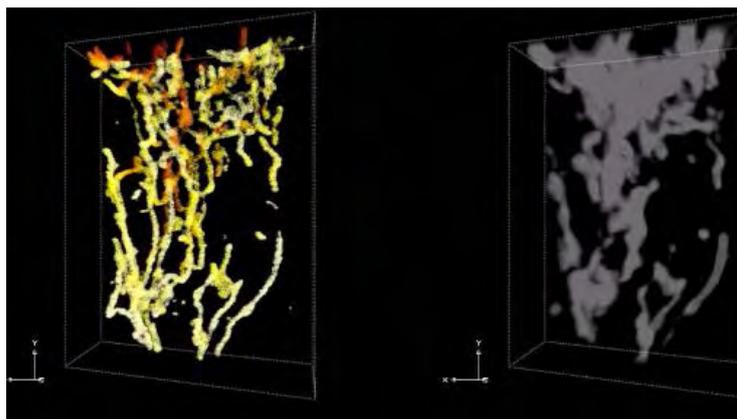
Téléphone : 01 56 24 67 54 – Email : [bassam.hajj@curie.fr](mailto:bassam.hajj@curie.fr), [maxime.dahan@curie.fr](mailto:maxime.dahan@curie.fr)

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

**Titre du stage : Advancing tools for 3D single molecule imaging for tracking and super-resolution microscopy in living cells**

Due to its specificity and ability to image live samples, fluorescence microscopy is the most widely used imaging tool for biological studies. One of the most important challenges in fluorescence microscopy is to develop optical systems that permit the rapid and ultrasensitive acquisition of 3D data (Bajj et al. PCCP 2014). Recently, we have demonstrated a novel approach the multifocus microscope (MFM), which achieves simultaneous acquisition of nine equally spaced focal planes on a single camera through the combination of a specialized diffractive grating and chromatic correction elements placed in the microscope emission path (Abrahamsson et al. Nature Methods 2013). With this volumetric acquisition, we could reach the sensitivity of a single molecule, enabling 3D tracking experiments and super-resolution microscopy (with resolution 50 nm) over imaging depths comparable to the size of cellular samples.

The great sensitivity and versatility of multifocus microscopy makes it very appealing for a wide range of applications in biophysics and biology. Yet, it also raises many challenges that will be addressed by the candidate. This includes: 1) implementing multicolor capabilities, 2) investigating new concepts in data analysis (new deconvolution algorithm, compressed sensing methods...) to handle the large amount of data, 3) developing new tools for visualizing and handling 3D data, such as stereovision using Oculus Rift technology. The development of the new methodologies indicated above will be accompanied by work on different applications, such the tracking of molecules or gene loci in the nucleus of living cells, or super-resolution microscopy of cellular structures.



*Figure 1: exemple of 3D super-resolution imaging of mitochondria in HeLa cells. Left: 3D STORM image acquired with MFM. Right: regular fluorescence image.*

We are looking for a highly motivated candidate, familiar with data processing tools. A knowledge of optical microscopy, imaging and cellular culture is desirable but not mandatory.

**Recent references of the host lab:** 1) B. Hajj et al. PNAS (in revision). 2) B. Hajj, et al., PhysChemChemPhys (2014) 16(31):16340. 3) M. El Beheiry and M. Dahan, Nature Methods (2013) 10, 689. 4) S. Abrahamsson et al., Nature Methods (2013) 10(1):60. 4) I. Izeddin et al. Opt. Express (2012) 20, 4957

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Physico-Chimie Curie CNRS UMR168

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

Responsable(s) de Stage : M. Dahan/ I. Izeddin

Téléphone : 01 56 24 67 54 – Email : [ignacio.izeddin@curie.fr](mailto:ignacio.izeddin@curie.fr), [maxime.dahan@curie.fr](mailto:maxime.dahan@curie.fr)

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

**Titre du stage : Probing Target-search processes at the single molecule level in the cellular nucleus**

In eukaryotic cells, the genetic material is tightly packed in the nucleus; DNA is a meter-long polymer tightly folded within a nucleus of  $\sim 10 \mu\text{m}$  in diameter. The higher order levels of DNA organization in the nucleus constitute a striking example of a complex environment, the nucleoplasm, where chemical reactions are spatially organized in an interaction network devoted to gene regulation. Gene expression is a multistep process that involves transcription, RNA processing and export, and translation of proteins in the cytoplasm. The process of gene expression is used by all known living organisms (eukaryotes, prokaryotes and viruses) and is regulated at many levels. This regulation ensures that the cell triggers or silences the production of specific genes at a specific moment and rate.

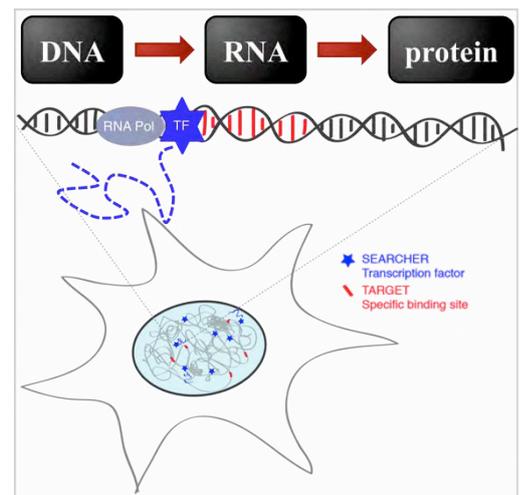
The first step of most proteins involved in DNA processing comprises binding to a specific sequence of DNA or to a molecular partner in a complex bound to DNA. Such a sequence typically contains tens to hundreds of base pairs that the protein needs to find along a chain of  $3 \times 10^9$  base pairs in the human genome. The kinetics of this target-search cannot be explained by the simple rules of Brownian diffusion and is a crucial step in the process of gene expression regulation.

Very recently, advances in the field of optical microscopy have made it possible to observe the diffusion of single molecules in the nucleus of living cells. This can be achieved with spatial and temporal resolutions of tens of nanometers and milliseconds, respectively. Simultaneously, genome engineering techniques have facilitated the manipulation of different types of DNA-binding proteins. Among them, transcription activator-like effectors (TALEs). One property of TALEs is that they can be engineered to recognize specific sequences of DNA. TALEs can also be labeled with fluorescent markers.

With this system, we propose to study the mobility of TALEs looking for their target at the single-molecule level, in the relevant context of the living cell. We want to address the following questions : How does the length of the DNA-target sequence affect the search-time? What is the influence of non-specific interactions between the TALEs and sequences similar to the target-sequence? How does crowding and DNA compaction impact the local mobility of the searcher protein?

We are looking for a highly motivated candidate to participate to this experimental project. A background in biophysics, as well as some knowledge of optical microscopy and cell culture, are desirable but not mandatory.

**Recent references of the host lab:** I. Izeddin, et al., *Elife* (2014) e02230 . 2) J. Chen et al. *Cell* (2014) 156, 1274. 3) I. Cisse et al., *Science* (2013) 341, 664.



*Target search process of DNA-processing molecules in the crowded and complex medium of the nucleus.*

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire de Chimie Physique,

Adresse : Université Paris Sud, Bâtiment 349, 15 av. J. Perrin, 91405 Orsay.

Responsable de stage : Aurélien de la Lande et Fabien Cailliez

Email : [aurelien.de-la-lande@u-psud.fr](mailto:aurelien.de-la-lande@u-psud.fr) ou [fabien.cailliez@u-psud.fr](mailto:fabien.cailliez@u-psud.fr)

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED chimie 470

Profil recherché : Candidats intéressés par les simulations numériques de processus biochimiques

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : Allocation ministérielle

Titre du stage : Etude de transferts d'électrons ultra-rapides dans le cryptochrome

## Résumé :

Les cryptochromes sont des protéines photosensibles qui sont impliqués dans la synchronisation des horloges biologiques.[1] Les cryptochromes purifiés incluent un cofacteur flavine dans sa forme oxydée (FAD). L'absorption d'une lumière bleue entraîne l'excitation puis la photoréduction de cette flavine ( $FAD^* \rightarrow FAD^\bullet$ ) par un résidu tryptophane ( $W_{400}$ ) situé à proximité. La charge positive ainsi formée sur  $W_{400}^+$  migre rapidement (en quelques dizaines de picosecondes environ) vers deux autres résidus tryptophane ( $W_{377}$  et  $W_{324}$ ). Une récente étude expérimentale a montré l'importance de l'environnement (présence d'ATP et valeur du pH) sur la cinétique du transfert d'électron global. [2] A l'aide de simulations moléculaires, nous avons pu corrélérer ces résultats avec la cinétique du premier transfert d'électron ayant lieu entre  $W_{400}$  et  $FAD^*$ . [3]

La cinétique et le mécanisme détaillé du transfert de charge au sein de la triade de résidus tryptophane ne sont en revanche pas connus. Les données expérimentales disponibles à l'heure actuelle ne possèdent en effet pas la résolution suffisante pour sonder la présence d'états intermédiaires (charge positive localisée sur  $W_{377}$ ) ni même pour déterminer la cinétique globale du processus. La simulation moléculaire est alors un outil de choix pour accéder à ces informations.

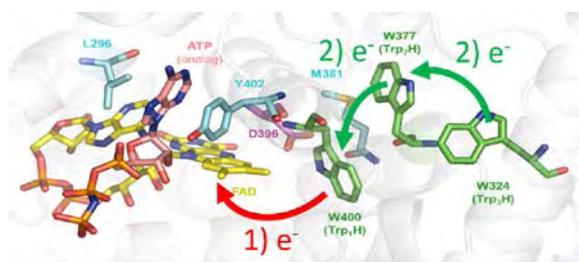


Figure : centre photo-réactif du cryptochrome de plante (code pdb: 1U3D) montrant la flavine (en jaune), la triade de résidus tryptophane (en vert), le résidu D396 (en violet) ainsi que divers résidus spectateurs.

L'objet de ce stage est d'étudier le transfert d'électron au sein de la triade de tryptophanes dans le cryptochrome. La méthode envisagée sera d'utiliser des simulations de dynamique moléculaire non-Born-Oppenheimer de type *Surface Hopping* [4]. Cette méthode permet de simuler les transitions électroniques entre les différents états de charge ( $W_{400}^+ - W_{377} - W_{324}$ ,  $W_{400} - W_{377}^+ - W_{324}$ , et  $W_{400} - W_{377} - W_{324}^+$ ). Alternativement, nous pourrions chercher à établir les profils d'énergie libres associés à ces transferts dans le cadre de la théorie de Marcus. Dans les deux cas des approches hybrides de type QM/MM (*Quantum Mechanics/Molecular Mechanics*) seront utilisées afin de tenir compte de la présence de la protéine autour des tryptophanes. ainsi que de sa dynamique.

[1] : I. Chaves et al. *Annu. Rev. Plant. Biol.* **2011**, 62 : 335.

[2] : P. Müller, J. -P. bouly, K. Hitomi, V. Balland, E. Getzoff. *Scientific Reports.* **2014**, 4 : 5175.

[3] : F. Cailliez, P. Müller, M. Gallois, A. de la Lande *JACS.* **2014**, 136 : 12974.

[4] : J.C. Tully, *Faraday Discuss.* **1998**, 110 : 407

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire:** Laboratoire Interdisciplinaire de Physique

**Adresse :** 140, rue de la Physique, 38402 St Martin d'Hères (Grenoble)

**Responsable de stage :** Delphine Débarre et Lionel Bureau

**Email :** delphine.debarre@ujf-grenoble.fr / lionel.bureau@ujf-grenoble.fr

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

**Profil recherché:** physicien ou physico-chimiste avec un intérêt pour la biologie

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** bourse de l'Ecole Doctorale ou région Rhone-Alpes

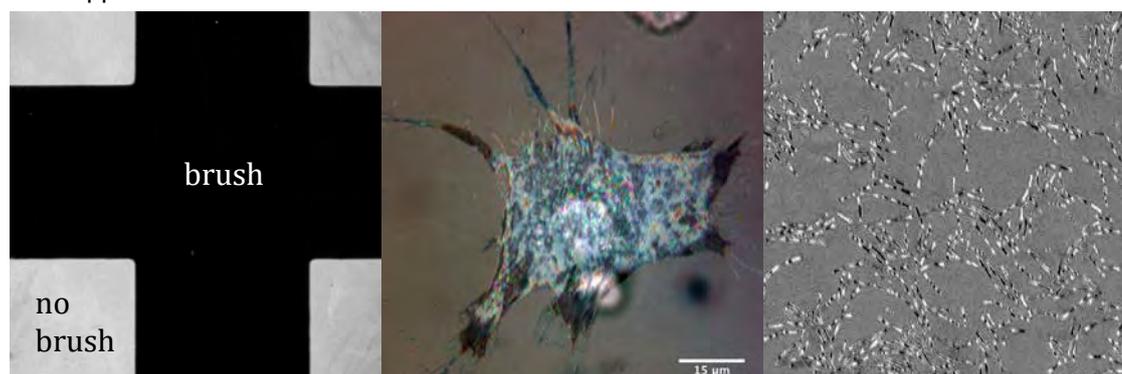
**Titre du stage :** Etude de l'adsorption de protéines et de l'adhésion cellulaire sur des substrats contrôlables / Study of protein adsorption and cell adhesion on smart substrates

**Résumé :** L'élaboration de surfaces fonctionnelles permettant de contrôler l'adhésion cellulaire représente un champ de recherche particulièrement actif, qui cherche à répondre à des enjeux à la fois fondamentaux et technologiques, en particulier : (i) dans la perspective du contrôle *in vitro* des interactions de cellules de mammifère avec leur substrat de culture, et (ii) dans le domaine du design de surfaces prévenant l'adhésion et la prolifération bactérienne.

L'adhésion cellulaire est gouvernée par des protéines, présentes dans l'environnement extracellulaire, qui doivent s'adsorber sur la surface de manière à fournir les points d'ancrage nécessaires aux cellules. Dans ce contexte, une stratégie particulièrement prometteuse pour contrôler l'adhésion consiste à utiliser des surfaces sur lesquelles sont greffées des brosses de polymère d'épaisseur nanométrique. Ces brosses de polymère vont contrôler l'adsorption des protéines en se comportant comme des « barrières stériques », dont l'efficacité dépend très fortement de leur structure moléculaire (longueur des chaînes, densité de greffage, conformation du polymère). Afin de concevoir ces surfaces fonctionnelles de façon rationnelle, il est à l'heure actuelle indispensable de comprendre en détail comment ces paramètres moléculaires affectent l'adsorption de protéines.

C'est cette question que nous proposons d'aborder dans ce projet, en adoptant la démarche suivante :

ii) on utilisera des brosses de polymère thermosensibles, dont notre équipe maîtrise l'élaboration, afin de réaliser des expériences de suivi quantitatif de l'adsorption/relargage de protéines par microscopie confocale en fluorescence, pour cerner le rôle de la structure des brosses ainsi que de la taille et de la nature des protéines, iii) ce travail sera corrélé à une étude directe du comportement adhésif de cellules et de bactéries, utilisant la microscopie de contraste interférentiel en réflexion (RICM) mettant en œuvre un dispositif original récemment développé au laboratoire.



(a) Contrôle de l'adsorption de protéines marquées visualisé par microscopie confocale quantitative; (b) adhésion cellulaire (zones noires) imagée en microscopie RICM; (c) le RICM permet de détecter l'orientation 3D et la dynamique de bactéries au début de l'adhésion.

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire:** Laboratoire Interdisciplinaire de Physique

**Adresse :** 140, rue de la Physique, 38402 St Martin d'Hères (Grenoble)

**Responsable de stage :** Delphine Débarre et Lionel Bureau

**Email :** delphine.debarre@ujf-grenoble.fr / lionel.bureau@ujf-grenoble.fr

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

**Profil recherché:** physicien ou physico-chimiste avec un intérêt pour la biologie

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** bourse de l'Ecole Doctorale ou région Rhone-Alpes

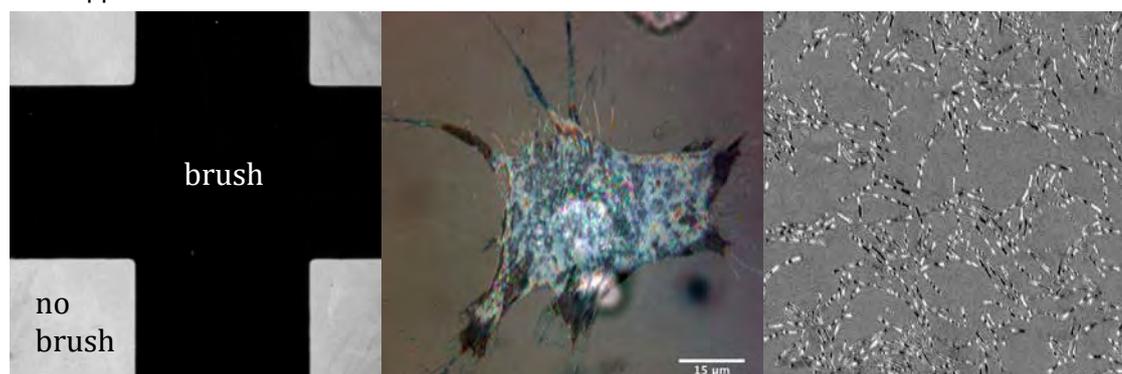
**Titre du stage :** Etude de l'adsorption de protéines et de l'adhésion cellulaire sur des substrats contrôlables / Study of protein adsorption and cell adhesion on smart substrates

**Résumé :** L'élaboration de surfaces fonctionnelles permettant de contrôler l'adhésion cellulaire représente un champ de recherche particulièrement actif, qui cherche à répondre à des enjeux à la fois fondamentaux et technologiques, en particulier : (i) dans la perspective du contrôle *in vitro* des interactions de cellules de mammifère avec leur substrat de culture, et (ii) dans le domaine du design de surfaces prévenant l'adhésion et la prolifération bactérienne.

L'adhésion cellulaire est gouvernée par des protéines, présentes dans l'environnement extracellulaire, qui doivent s'adsorber sur la surface de manière à fournir les points d'ancrage nécessaires aux cellules. Dans ce contexte, une stratégie particulièrement prometteuse pour contrôler l'adhésion consiste à utiliser des surfaces sur lesquelles sont greffées des brosses de polymère d'épaisseur nanométrique. Ces brosses de polymère vont contrôler l'adsorption des protéines en se comportant comme des « barrières stériques », dont l'efficacité dépend très fortement de leur structure moléculaire (longueur des chaînes, densité de greffage, conformation du polymère). Afin de concevoir ces surfaces fonctionnelles de façon rationnelle, il est à l'heure actuelle indispensable de comprendre en détail comment ces paramètres moléculaires affectent l'adsorption de protéines.

C'est cette question que nous proposons d'aborder dans ce projet, en adoptant la démarche suivante :

ii) on utilisera des brosses de polymère thermosensibles, dont notre équipe maîtrise l'élaboration, afin de réaliser des expériences de suivi quantitatif de l'adsorption/relargage de protéines par microscopie confocale en fluorescence, pour cerner le rôle de la structure des brosses ainsi que de la taille et de la nature des protéines, iii) ce travail sera corrélé à une étude directe du comportement adhésif de cellules et de bactéries, utilisant la microscopie de contraste interférentiel en réflexion (RICM) mettant en œuvre un dispositif original récemment développé au laboratoire.



(a) Contrôle de l'adsorption de protéines marquées visualisé par microscopie confocale quantitative; (b) adhésion cellulaire (zones noires) imagée en microscopie RICM; (c) le RICM permet de détecter l'orientation 3D et la dynamique de bactéries au début de l'adhésion.

# Computational properties of neuronal dendrites

**Master thesis or PhD thesis project – September 2014**

**Supervisor: Alain Destexhe (CNRS, UNIC, Gif sur Yvette)**

Neurons of cerebral cortex are characterized by extensive ramifications called dendrites, which collect most of the synaptic inputs that the neuron receives. Despite such a structure, the exact role of dendrites is still unknown, mostly because dendrites are difficult to record directly – dendritic patch recordings for example can only be realized at one or a couple of dendritic sites, and are known to damage the cell. However, recent advances in optical recordings with voltage-sensitive dyes (VSD) permit, for the first time, to record the whole extent of the dendritic tree of central neurons.

At the point of view of neuronal modeling, most of today's neuron models are « point models » which do not consider dendrites. The aim of this PhD or Master project is to investigate the computational properties of neurons that include dendrites, using computational models constrained by both in vivo recordings and VSD recordings. We propose to consider both precise models, obtained from reconstructions of real neurons, and simplified models, where the dendrites are idealized by a simpler structure. We will use numerical simulations to compare neuron models with and without dendrites, under in vivo conditions. The goal is to determine what type of computational properties are conferred by the presence of dendrites. This project may be continued by considering neural networks consisting of models with dendrites, with the goal of determining what type of computations can be done by such networks.

This research is part of the Human Brain Project, and during this thesis, the student will continuously interact with researchers from this project, as well as with theoreticians and experimentalists at the UNIC. A participation to experiments is possible.

Contact : Alain Destexhe, [destexhe@unic.cnrs-gif.fr](mailto:destexhe@unic.cnrs-gif.fr)

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire:** Laboratoire Interdisciplinaire de Physique

**Adresse :** 140 rue de la physique, 38402 Saint Martin d'Hères

**Responsable de stage :** Aurélie Dupont

**Email :** aurelie.dupont@ujf-grenoble.fr

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** Ecole doctorale de physique de Grenoble

**Profil recherché:** Interface physique-biologie, expérimental

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** MENRT

**Titre du stage :** Designing magnetically actuated substrates to probe mechanotransduction

### **Résumé :**

Adherent cells can sense their physical environment (forces, rigidity, shape) and react to external mechanical stimuli. The translation of a mechanical signal into a biochemical cue, the intracellular type of signal, is called mechanotransduction. To better understand this process we aim to apply defined forces to single cells and measure their biochemical response.

In the team, we can measure cellular traction forces exerted by cells plated on a soft substrate. We now aim to develop active substrates, so as to go beyond passive read-out. The idea is to embed micron scaled magnetic elements in the substrate and to magnetically actuate them so as to apply variable forces on the adherent cell without touching it.

The trainee will work on the design, fabrication and testing of active substrates, in collaboration with a team at Institut Néel. This internship requires experimental skills for the development and interfacing of a new technique. The practical goals are the fabrication, optimization and calibration of the magnetic force system. The intern will work together with a postdoctoral fellow to try the system on cells and image the cells response.

This project is a part of larger project with the ultimate goal of decoding the mechanotransduction. The PhD thesis will include developing a state-of-the-art optical microscope and coupling the active substrates with optogenetic tools to probe mechanotransduction in both ways from mechanics towards biochemistry and *vice versa*.

**Keywords:** traction force microscopy, microfabrication, magnetic force, live cell imaging

**Laboratoire d'accueil:** LIPhy, Université J. Fourier, Grenoble

**Collaboration:** Nora Dempsey, I. Néel, Grenoble

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire: Matière et Systèmes Complexes (MSC), UMR 7057

Adresse : Université Paris Diderot - 10 rue A. Domon et L. Duquet- 75205 Paris cedex 13

Responsable de stage : Marc Durand

Email : marc.durand@univ-paris-diderot.fr

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

Profil recherché: physicien ou biophysicien aimant la modélisation analytique et/ou numérique

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : contrat doctoral

**Titre du stage : Physique statistique des milieux cellulaires**

## Résumé :

Les mousses liquides, les milieux granulaires, les systèmes biologiques, et les matériaux vitreux ont en commun d'être des systèmes thermodynamiquement hors-équilibre: soit ces systèmes possèdent un grand nombre d'états métastables dans lesquels ils sont piégés aux températures usuelles (ex: mousse ou milieu granulaire au repos, matériaux vitreux), soit un flux d'énergie est injecté continûment depuis une source non thermique, pour ensuite être dissipé par des frictions internes (ex: granulaire vibré, tissu épithélial). Dans ce cas une dynamique est conférée au système, lui permettant d'explorer son espace des phases.

Ces systèmes étant constitués d'un grand nombre d'objets individuels (bulles, grains, cellules, ou atomes), il est séduisant de les traiter avec les outils et le formalisme de la physique statistique standard, en dépit de leur nature hors-

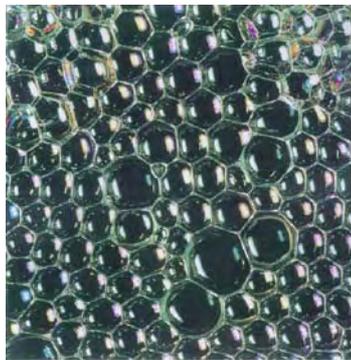


Figure 1: exemple de motif cellulaire. On peut définir un désordre topologique et un désordre géométrique pour un tel système.

mousse 2D constitue un modèle simplifié de tissus biologiques. Dans ce dernier cas l'agitation est provoquée par les fluctuations des membranes engendrées par les cellules elles-mêmes. L'étude des mousses pourraient à terme permettre de comprendre certains phénomènes collectifs observés dans les tissus biologiques.

Récemment, nous avons développé un modèle s'inspirant du formalisme de la physique statistique : dans une mousse agitée (mécaniquement ou thermiquement), les bulles échangent certaines quantités géométriques et topologiques au cours de leurs mouvements, en obéissant à des lois de conservation. Dans une approche de champ moyen, le modèle permet alors de corréler les propriétés topologiques (nombre de côtés) et propriétés géométriques (taille) de chaque bulle. Le très bon accord de ces prédictions avec des données expérimentales et numériques forment les premiers succès de cette théorie. Ce formalisme permet également de définir une température effective pour une mousse secouée, laquelle s'avère être une mesure directe de la polydispersité en taille des bulles : la condition d' « équilibre thermodynamique » est alors claire : la mousse doit avoir une polydispersité homogène. Par ailleurs, le modèle prédit une transition ordre-désordre topologique : en dessous d'un contraste de taille critique, la mousse cristallise : *i.e.* toutes les bulles ont 6 côtés.

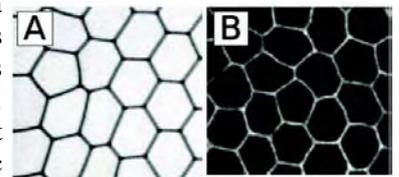


Figure 2: similitudes visuelles entre une mousse 2D (A) et un tissu biologique (B).

Le but du stage proposé est de poursuivre l'analogie avec la physique statistique des systèmes thermiques à l'équilibre. Sur le plan numérique (simulations de Potts cellulaires), on pourra étudier les conditions d'équilibre entre deux mousses agitées et mises en contact. Le modèle prédit que l'homogénéisation du système correspond à une température d'équilibre qui peut être supérieure à celles des deux sous-systèmes indépendants, ce qui est très différent des systèmes thermodynamiques classiques. On pourra également comparer les effets d'un secouage mécanique et d'un secouage thermique (un tel secouage est faisable numériquement). Enfin, on pourra chercher à caractériser la transition de cristallisation prédite par le modèle dans une approche champ moyen. Sur le plan analytique, on pourra étendre le modèle dans plusieurs directions : amélioration du modèle de champ moyen en tenant compte des corrélations entre premiers voisins, extension aux tissus biologiques en adaptant l'énergie d'interface et en tenant compte des phénomènes de division cellulaire et apoptose,...

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire: Matière et Systèmes Complexes (MSC), UMR 7057

Adresse : Université Paris Diderot - 10 rue A. Domon et L. Duquet- 75205 Paris cedex 13

Responsable de stage : Marc Durand

Email : marc.durand@univ-paris-diderot.fr

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

Profil recherché:

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : contrat doctoral et/ou bourse INSIS

Titre du stage : Morphogenèse du réseau vasculaire d'un système biologique modèle (*P. Polycephalum*) : Croissance, auto-organisation, et optimisation

A l'instar de *E. Coli*, *C. Elegans*, ou de la drosophile, *Physarum Polycephalum* fait partie des organismes modèles intensément étudiés par la communauté scientifique. Dans sa phase plasmode, cet organisme unicellulaire géant est constitué de la fusion de milliers de cellules indifférenciées. Il peut alors atteindre une taille macroscopique (jusqu'à 40cm) et développe un réseau tubulaire dans lequel un écoulement oscillant est généré par la contraction de la couche membraneuse entourant les éléments tubulaires. Ces écoulements permettent de pallier aux courants diffusifs qui sont alors trop faibles pour transporter l'oxygène, les nutriments, ou les déchets sur de telles échelles. Ce réseau tubulaire a en outre la propriété remarquable de se modifier et de se réorganiser en fonction de la position des sources de nourriture. On constate qu'au cours de cette réorganisation, le réseau est de moins en moins réticulé et que sa structure semble suivre un schéma d'optimisation. Dans le même temps, le reste du plasmode se résorbe de sorte que l'organisme se résume essentiellement à un réseau optimisé reliant les sources de nourritures entre-elles.



Figure 1: *P. Polycephalum* dans sa phase de croissance. Taille réelle ~6 cm.

*P. Polycephalum* est sans doute l'organisme vivant le plus simple doté d'un réseau tubulaire. En dépit de cette apparente simplicité, la croissance de ce réseau partage des traits communs avec celle du système vasculaire d'organismes plus évolués, ou encore avec les mécanismes d'irrigation de tumeurs. Ainsi, on distingue nettement deux étapes dans le développement du plasmodium, une phase de croissance au cours de laquelle *P. Polycephalum* explore son environnement avec un réseau très dense et très réticulé. Puis une phase de réorganisation durant laquelle l'organisme semble suivre un schéma d'optimisation: le réseau devient de moins en moins réticulé, jusqu'à ce que finalement le réseau se réduise à quelques tubes reliant les différentes sources de nourritures entre elles.

On constate de plus que des plasmodiums issus d'une même souche peuvent fusionner en un seul plasmodium plus grand; leurs réseaux se reconnectent, permettant l'échange de cytoplasme, noyaux, vésicules, etc.

Bien que de nombreuses études ont démontrées la capacité de *P. Polycephalum* à construire un réseau de transport efficace (sinon optimisé), elles n'expliquent pas comment une telle prouesse est accomplie. L'objectif de ce projet est d'identifier les causes et les mécanismes qui sont à la base de l'évolution du réseau tubulaire dans trois stades clairement identifiés du développement de *P. Polycephalum*:

- la création du réseau primaire réticulé au cours de la phase de croissance de l'organisme;
- la réorganisation et l'optimisation du réseau tubulaire;
- la reconnexion des réseaux tubulaires de deux plasmodiums qui fusionnent.

Pour cela, nous aurons besoin d'acquérir deux types de données simultanément : les caractéristiques structurelles (diamètres, longueurs, angles entre les veines, redondance du réseau, connectivité des nœuds) d'une part, et la répartition des écoulements dans le réseau d'autre part.

Ces données permettront: *i*) d'étudier le couplage entre l'évolution de la structure du réseau et l'écoulement à travers celui-ci; *ii*) de déterminer les contraintes hydrodynamiques associées aux écoulements ; *iii*) d'étudier la corrélation entre la restructuration du réseau (disparition de boucles) et la synchronisation des écoulements dans le réseau au cours du stade de réorganisation.



## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

**Laboratoire: Matière et Systèmes Complexes (MSC), Univ. Paris Diderot et CNRS UMR 7057**

**Adresse :** Bât. Condorcet, 10 rue Alice Domon et Léonie Duquet, Paris 13<sup>ème</sup>

**Responsable de stage :** Florence ELIAS, Philippe BRUNET et Julien DERVAUX

**Email :** florence.elias@univ-paris-diderot.fr, philippe.brunet@univ-paris-diderot.fr

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** ED "Physique en Ile de France" (564)

**Profil recherché:** Tous les parcours de la spécialité

**Possibilité de poursuite en thèse :** Oui

**Financement envisagé :** Stage financé par le laboratoire, bourse de thèse à obtenir sur concours

**Titre du stage :** Nage de micro-algues flagellées en milieu confiné déformable

### Résumé :

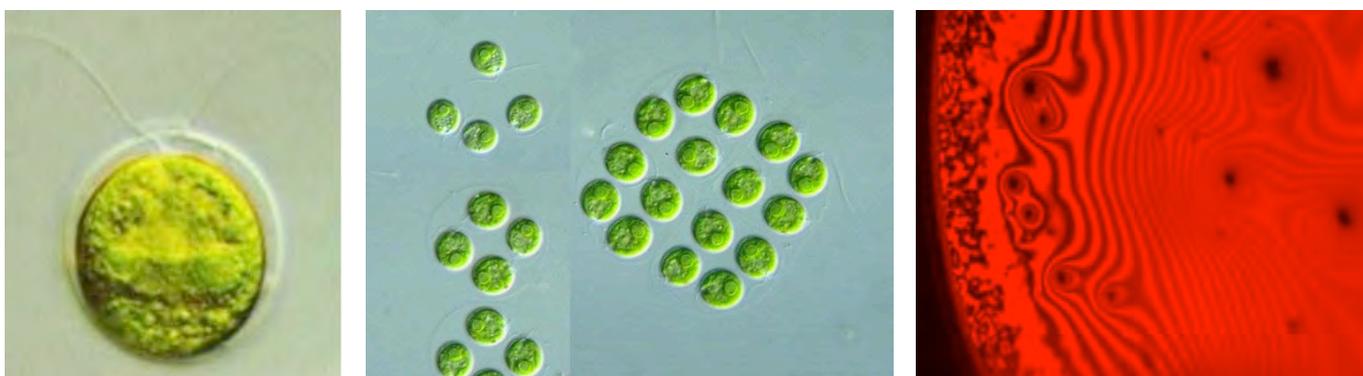
Afin d'assurer leur survie, de nombreux micro-organismes (vers, champignons, bactéries, micro-algues...) ont développé des mécanismes de motilité leur permettant d'envahir divers environnements. Etant données les dimensions et vitesses caractéristiques des microbes, la nage des micro-organismes s'opère à petit nombre de Reynolds. Ce régime de nage diffère fondamentalement des régimes typiques d'organismes plus larges tels que les poissons ou les mammifères pour lesquels l'inertie est dominante. Cette distinction a des conséquences importantes en terme biologique: le mécanisme de nage doit présenter une asymétrie spatiale et non plus seulement temporelle (théorème de Purcell). D'autre part, la nage à bas nombre de Reynolds conduit à des interactions hydrodynamiques spécifiques entre micro-organismes et à l'émergence de comportements collectifs originaux. A l'échelle plus large de la trajectoire, le mouvement de nombreux micro-organismes en phase liquide suit typiquement des phases rectilignes entrecoupées de brusques changements de direction. Ce processus de déplacement, appelé «run-and-tumble», présente d'importantes analogies avec le mouvement aléatoire Brownien et a été l'objet d'un grand nombre d'études expérimentales, théoriques et numérique au cours des dernières décennies.

Toutefois, en dépit de ce fort intérêt pour l'étude de la nage de bactéries ou de micro-algues en milieu liquide, peu d'études se penchent sur l'influence du confinement sur la motilité des micro-organismes, une contrainte pourtant essentielle et pertinente dans les situations naturelles. En effet, les micro-organismes dans leur environnement doivent évoluer dans des milieux complexes, encombrés et aux propriétés mécaniques variés tels que des poreux (sols, sédiments, mousses marines) ou des gels (mucus, biofilms). Dans ces situations, le confinement contraint la nage d'un micro-organisme dans des dimensions comparables à la longueur de ses phases de mouvements rectilignes, soit quelques fois la taille de ces microbes. Expérimentalement, plusieurs travaux récents se sont penchés sur ces effets en confinant des micro-organismes dans des canaux microfluidiques de quelques dizaines de microns. Ces expériences ont permis de souligner l'importance des interactions hydrodynamiques et stériques entre parois et micro-organismes motiles. Dans la nature, les contraintes de confinement peuvent cependant être très variées et ne se limitent pas à des confinements rigides : les milieux confinant peuvent être visqueux et/ou élastiques, linéaires ou non. Le confinement de la nage des micro-organismes par des milieux déformables mous reste à ce jour largement inexploré.

Ce stage porte sur la nage d'une micro-algue flagellée (*Chlamydomonas reinhardtii*) dans un milieu confiné mou modèle: un film de savon biocompatible, dont les interfaces constituent une condition de confinement plus ou moins rigide. Outre les questions fondamentales portant sur l'hydrodynamique des micro-nageurs en milieu

confiné, cette étude est également motivée par une observation environnementale originale : certains micro-organismes (*Phaeocystis globosa*) peuvent survivent dans des mousses marines tandis que de nombreuses autres espèces périssent dans ces mousses et on cherchera à déterminer si ce mécanisme de survie possède ou non une origine hydrodynamique. L'utilisation d'un film de savon permettra d'atteindre des épaisseurs de confinement comparables à la taille des micro-organismes motiles. A l'aide d'un microscope à contraste de phase, on cherchera à suivre le mouvement des algues lors de l'amincissement du film au cours du temps dans le but de sonder l'existence de plusieurs régime de nage en fonction de l'épaisseur du film. De plus, en jouant sur la composition chimique de la solution utilisée pour produire le film, on pourra changer les conditions aux limites aux interfaces, en les rendant plus ou moins mobiles. La modification de l'épaisseur du film et/ou de la rhéologie interfaciale permettra de faire varier les contraintes de confinement exercées sur le micro-organisme. Le travail de ce stage consistera donc à analyser le mouvement des micro-algues et à le quantifier en fonction de ces deux paramètres de confinement. Ce sujet sera l'occasion pour l'étudiant(e) de se familiariser avec les techniques expérimentales de culture des algues, de microscopie et d'analyse du signal (particle tracking).

Ce stage exploratoire pourra se poursuivre en thèse. On pourra alors complexifier la rhéologie du film de savon en ajoutant des polymères biocompatibles dans la solution savonneuse pour la rendre viscoélastique. On pourra également complexifier la géométrie du confinement en étudiant la motilité dans un milieu poreux 2D ou 3D, rigide ou mou comme par exemple une mousse de savon.



*Gauche : micro-algue Chlamydomonas reinhardtii (diamètre de 5 à 10  $\mu\text{m}$ ) dont on peut distinguer les flagelles – Milieu : colonies de Chlamydomonas reinhardtii – Droite : micro-algues confinées dans un film de savon biocompatible (épaisseur : quelques micromètres), éclairé en lumière rouge. Les franges d'interférence lumineuses sont perpendiculaires aux gradients d'épaisseur. Les points noirs sont des micro-algues confinées dans le film (ici plus fin que l'algue). La largeur totale de l'image est d'environ 5 mm*

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire:** Laboratoire de Chimie Physique ou LCP, UMR 8000,

**Adresse :** Université Paris Sud, Bat349, 91405 Orsay

**Responsable de stage :** Marie Erard et Filippo Rusconi

**Email :** [marie.erard@u-psud.fr](mailto:marie.erard@u-psud.fr) ou [filippo.rusconi@u-psud.fr](mailto:filippo.rusconi@u-psud.fr)

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** ED470 Ecole Doctorale de Chimie de Paris Sud

**Profil recherché:** chimiste / physicochimiste / biochimiste

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** ED / IDEX / région

**Titre du stage :** Vers des protéines fluorescentes de la famille des GFP qui résistent mieux aux illuminations prolongées et/ou intenses.

**Résumé :**

Les protéines fluorescentes de la famille de la Green Fluorescent Protein (GFP)[1] subissent des dommages irréversibles induits par la lumière lors de leur observation en microscopie de fluorescence : c'est le photoblanchiment. L'ensemble des modifications covalentes induites par ce stress lumineux sont complexes et mal caractérisées. Elles constituent une limitation majeure à l'utilisation des protéines fluorescentes en imagerie et notamment pour les nouvelles formes d'imagerie ultra-résolutives.

Il a été montré récemment in vitro, et plus particulièrement dans un cristal de protéines fluorescentes, que le photoblanchiment produisait des modifications chimiques covalentes et que ces modifications dépendaient des conditions d'illumination [2]. Nous aimerions étudier l'importance de ces phénomènes in cellulo afin, notamment, de proposer de nouveaux variants plus résistants à l'illumination.

Ce stage, intrinsèquement multidisciplinaire, a pour objectif de mettre au point une nouvelle approche analytique qui permettra d'identifier les dommages faits aux protéines, en utilisant, en particulier la spectrométrie de masse [3] puis de proposer de nouveaux variants plus résistants.

Techniques utilisées : biologie cellulaire, techniques analytiques et préparatives en biochimie, spectroscopies et microscopies de fluorescence stationnaire et résolue en temps, spectrométrie de masse

[1] Pasquier, Lumière sur les protéines fluorescentes, Med. Sci. 2008 ; 24, 985

[2] Duan et al, Structural Evidence for a Two-Regime Photobleaching Mechanism in a Reversibly Switchable Fluorescent Protein J. Am. Chem. Soc. 2013, 135, 15841

[3] Berthelot et al, An analytical workflow for the molecular dissection of irreversibly modified fluorescent proteins Anal. Bioanal. Chem. 2013, 405, 8789

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire :** Laboratoire Interdisciplinaire de Physique ET Lab. Matière et Systèmes Complexes

**Adresse :** Domaine Universitaire, 38000 Grenoble / 10, rue Domon et Duquet, 75013 Paris

**Responsable de stage :** Jocelyn Etienne ET Atef Asnacios

**Email :** [Jocelyn.Etienne@ujf-grenoble.fr](mailto:Jocelyn.Etienne@ujf-grenoble.fr), [Atef.Asnacios@univ-paris-diderot.fr](mailto:Atef.Asnacios@univ-paris-diderot.fr)

**N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement :** 564 Physique en Île de France

**Profil recherché :** Physicien théorique intéressé par des approches interdisciplinaires pour la modélisation du vivant

**Possibilité de poursuite en thèse :** Oui

**Financement envisagé :** Ministère, via l'école doctorale de Physique ou de Mécanique

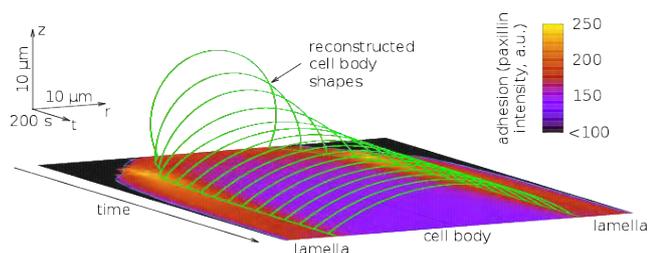
**Titre du stage :** Forces, forme et structure des cellules vivantes

<http://www-liphy.ujf-grenoble.fr/equipe/dyfcom/etienne/Stages/forces/>

## Résumé :

Les cellules vivantes sont dotées d'un cytosquelette formé de chaînes polymériques qu'elle réarrangent en permanence, reliées entre elles (réticulées) par des liens moléculaires temporaires, qui ne durent que quelques secondes. À ces liens s'ajoutent les moteurs moléculaires, capables d'exercer des forces contractiles au sein du cytosquelette. Ces forces sont transmises à l'environnement de la cellule via des molécules d'adhésion, lui permettant de déformer son substrat et, par un mécanisme encore mal compris, de se déplacer.

En utilisant des techniques de microscopie optique (dont la fluorescence des molécules clé de ces mécanismes) en conjonction avec des mesures de forces de traction sur cellule unique (dispositif à microplaques), nous avons pu caractériser le comportement mécanique du cytosquelette (Mitrossilis et al, PNAS 2009 et PNAS 2010) et démontrer qu'un modèle rhéologique pouvait prédire des comportements complexes de modulation de la force cellulaire selon la rigidité de son environnement.



Cependant, notre modèle n'inclut pour l'instant pas les mécanismes de transmission des forces au substrat via les adhésions. L'objectif de ce stage est d'explorer les possibilités de modéliser la contribution de l'adhésion en utilisant des résultats d'expériences permettant de visualiser la géométrie des zones adhérentes simultanément avec les mesures des forces transmises au substrat. Ce sujet est suivi d'une thèse, qui propose d'allier expériences et modélisation pour comprendre ce fonctionnement. Pour ce faire, le doctorant bénéficiera

de l'expertise des deux groupes du LIPHY (modélisation, microscopie à force de traction, AFM) et de MSC (expériences de microplaques, utilisation de drogues permettant de moduler les mécanismes moléculaires intracellulaires).

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire :** Laboratoire Interdisciplinaire de Physique

**Adresse :** Domaine Universitaire, 38000 Grenoble

**Responsable de stage :** Jocelyn Etienne

**Email :** Jocelyn.Etienne@ujf-grenoble.fr

**N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement :** 47 : école doctorale de physique de Grenoble

**Profil recherché :** Physicien théorique intéressé par des approches interdisciplinaires pour la modélisation du vivant

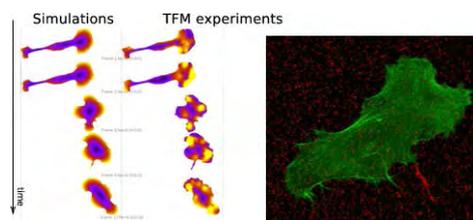
**Possibilité de poursuite en thèse :** Oui

**Financement envisagé :** Ministère, via l'école doctorale de Physique ou de Mécanique

**Titre du stage :** Migration de cellules vivantes : modélisation et simulations numériques

<http://www-liphy.ujf-grenoble.fr/equipe/dyfc/etienne/Stages/migration/>

## Résumé :



La cellule vivante est un système complexe d'une formidable robustesse, ce qui le rend extrêmement difficile à étudier : elle répond activement aux faibles perturbations, empêchant d'analyser la réponse dans un cadre linéaire. D'un point de vue mécanique, elle a développé une capacité à maintenir et faire évoluer sa forme et ses propriétés mécaniques. Pour ce faire, elle dispose d'un cytosquelette formé de polymères peu flexibles qu'elle réarrange en permanence, reliés entre eux (réticulés) par des liens moléculaires temporaires, qui ne durent que quelques secondes. À ces liens s'ajoutent les moteurs moléculaires, capables d'exercer des forces contractiles au sein du cytosquelette : ces forces sont transmises à l'environnement de la cellule, lui permettant de déformer son substrat et, par un mécanisme encore mal compris, de se déplacer.

Grâce à des expériences de rhéologie (arXiv:1407.2765), nous avons pu démontrer qu'un modèle mécanique simple du cytosquelette, décrivant le lien entre contraintes et taux de déformation, permet de prédire le comportement de celui-ci. Ce modèle peut maintenant être complété et exploité pour comprendre la motilité cellulaire, en s'appuyant sur des expériences de migration où nous mesurons simultanément les déplacements des cellules et les forces qu'elles exercent sur le substrat.

En utilisant et adaptant un code numérique existant, le stagiaire réalisera des simulations numériques de migration cellulaire et en comparera les résultats aux observations expérimentales obtenues au LIPHY. Il fera des propositions pour modifier le modèle existant et/ou les conditions expérimentales.

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire : Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (LIPhy, UMR 5588)**

**Adresse :** 140 Avenue de la Physique - BP 87

38402 Saint Martin d'Hères - FRANCE

**Responsable de stage :** Bertrand Fourcade

**Email :** Bertrand.Fourcade@ujf-grenoble.fr

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** Ecole Doctorale de Physique de Grenoble (ED 47)

**Profil recherché :** Théorie et intéressé(e) par le dialogue avec les expérimentateurs biologistes et physiciens

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** Bourse du Ministère pour l'instant

**Titre du stage :** Théorie et modélisation de la signalisation cellulaire : Des intégrines aux complexes focaux et aux podosomes.

**Résumé :**

Les récepteurs d'adhésion de la famille des intégrines permettent les interactions entre une cellule et la matrice extra-cellulaire et sont des noeuds important dans la signalisation bidirectionnelle entre une cellule et son environnement. En fonction de leur environnement lipidique, ces récepteurs changent d'états de conformation et peuvent alors recruter des partenaires et déclencher des signalisations. L'une des questions importantes posées par la biologie cellulaire est de connaître les principes physiques à l'origine de l'organisation spatiale et temporelle de ces réseaux. Le sujet proposé vise à y répondre sur plan théorique en modélisant ces réseaux comme des réseaux de réaction-diffusion et des réseaux stochastiques, ces dernières approches étant a priori plus adaptées aux réseaux biologiques.

En pratique, il s'agira d'étudier comment deux signalisations différentes, voire incompatibles, chacune liée à deux familles de récepteurs peuvent donner lieu à différentes organisations spatiales et temporelles sur une membrane bi-dimensionnelle. L'approche des équations de réaction-diffusion a déjà démontré que les structures les plus simples obtenues pour une seule famille de récepteurs, qu'elles soient statiques ou dynamiques, peuvent être décrites comme des structures auto-entretenues des systèmes dynamiques (anti-solitons chimiques). Cette analyse reste-elle valable dans le cas d'une approche stochastique ? Peut-on donner et classifier les réseaux en classes possédant des capteurs bio-mécaniques et donnant des schéma d'organisation différents ? En particulier, on s'intéressera à déterminer la réponse de ces systèmes à une perturbation biochimique mimant des approches d'opto-génétique où le système cellulaire peut être perturbé, par exemple, en inhibant localement une voie de signalisation.

Ce sujet de stage qui débouchera sur un sujet de thèse est un sujet de physique statistique hors-équilibre. Le spectre des outils utilisés sera très large et ira de l'outil numérique aux analyse d'EDP non-linéaires des systèmes dynamiques. Il s'agit aussi d'une approche théorique très imbriquée avec le travail de groupes expérimentaux tant physiciens que biologistes s'intéressant à différents types de structures adhesives (complexes focaux et podosomes), tant à l'Institut Albert Bonniot (équipe DYSAD) et au LIPhy. La communication avec ces groupes sera un atout essentiel à la réussite de ce projet.

<b>Sujet du stage</b> (sous forme de titre court) :						
<b>Laboratoire</b>						
Nom du Responsable :	:Fontecave Marc					
Affiliation administrative (CNRS, INSERM...) et n° l'Unité :	CNRS, Collège de France UMR 8229					
Adresse précise du Laboratoire :	Chimie des Processus Biologiques					
	11 place Marcelin Berthelot					
	75005 Paris					
<b>Équipe d'accueil des Doctorants</b>						
Nom de l'équipe:	Enzymologie Moléculaire et Structurale					
Nom du Responsable	Golinelli-Pimpaneau Béatrice					
École Doctorale de rattachement :	Complexité du Vivant, UPMC, Paris VI					
<b>Responsable du Stage</b>						
Nom :	Golinelli-Pimpaneau Béatrice					
Numéro de téléphone :	06	82	36	64	59	
Numéro de télécopie :	01	44	27	13	56	
Adresse électronique :	beatrice.golinelli@college-defrance.fr					
Profil de l'étudiant(e) souhaité :	biologiste moléculaire, biochimiste des protéines					
<b>Renseignements complémentaires</b>						
Perspectives de poursuite de thèse :		x	oui			Non
Avec une bourse spécifique :			oui		x	Non
si oui précisez :						
<b>Laboratoire d'accueil (Unité CNRS, INSERM, etc..) : CNRS</b>						
Nombre de chercheurs :	5		(dont	3		dans l'équipe d'accueil)
Nombre d'enseignants-chercheurs :	1		(dont	0		dans l'équipe d'accueil)
Nombre de "HDR" :	3		(dont	2		dans l'équipe d'accueil)
Nombre d'ITA :	6		(dont	2		dans l'équipe d'accueil)
Nombre de "post-docs" :	4		(dont	2		dans l'équipe d'accueil)

Nombre de visiteurs étrangers :	0	(dont	0	dans l'équipe d'accueil)
---------------------------------	---	-------	---	--------------------------

### Sujet de stage (et principales techniques) : Mechanistic and structural study of an enzyme that substitutes sulfur for selenium in tRNAs

Besides its presence within the rare amino acid selenocysteine in enzymes, selenium is found in the form of modified nucleosides in certain tRNAs (1). The most abundant selenonucleoside, 5-methylaminomethyl-2-selenouridine (mnm<sup>5</sup>se<sup>2</sup>U), present at the wobble position 34 of tRNAs belonging to the three domains of life, is thought to play a role in the fine tuning of codon-anticodon interactions and thus in translation fidelity. During the last two decades, considerable progress has been made in identifying genes involved in tRNA modification; however the enzymology of the encoded proteins remains to be studied. The present project specifically aims at characterizing biochemically and structurally 2-seleno-uridine-tRNA synthase that catalyzes the replacement of the sulfur atom in 5-methylaminomethyl 2-thiouridine at position 34 of tRNAs with a Se atom to form 5-methylaminomethyl 2-seleno-uridine using selenophosphate as a selenium-donor. The same enzyme was also shown to be responsible for the formation of the newly discovered S-geranyl-2-thiouridine modified nucleotide (ges<sup>2</sup>U) (2) that was subsequently proposed to serve as an intermediate product in the transformation of 2-thiouridine to 2-selenouridine (3).

The *E. coli* enzyme MnmH encoded by the *ybbB* gene is composed of an N-terminal catalytic rhodanese domain and a C-terminal domain containing a P-loop motif (4). Rhodanases are sulfurtransferases, which catalyze the transfer of sulfane sulfur from thiosulfate to cyanide in vitro, via a persulfide attached to a cysteine residue. The catalysis occurs via a double displacement mechanism involving the transient formation of a persulfide-containing enzyme intermediate, in which the transferring sulfur is bound to the invariant catalytic Cys residue. In archaea such as the Methanococcales, a bipartite ortholog of MnmH is present with two different proteins acting in *trans* (5).

The goal is to investigate the molecular mechanisms by which the sulfur atom in 2-thiouridine is replaced with Se, and how MnmH specifically recognizes its tRNA substrates. The different steps of the project are: (i) overexpression and production of the *E. coli* and *Methanocaldococcus jannaschii* enzymes using recombinant molecular biology and protein purification techniques (ii) Characterization of the catalytic activity of the selenium-transferase and ATPase activities of the enzymes (iii) understanding the role of the P-loop motif and identifying key residues, in particular cysteines involved in S/Se transfer using site-directed mutagenesis (iv) decipher the catalytic mechanisms by trapping Se-containing intermediates and using mass spectrometry (v) determination of the three-dimensional structure of the enzymes alone, and in complex with their substrates, in particular tRNA using X-ray crystallography

#### References

- (1) Biochemistry of selenium-derivatized naturally occurring and unnatural nucleic acids. Caton-Williams J, Huang Z. Chem Biodivers. 2008 Mar;5(3):396-407.
- (2) Discovery and biological characterization of geranylated RNA in bacteria. Dumelin CE, Chen Y, Leconte AM, Chen YG, Liu DR. Nat Chem Biol. 2012 Nov;8(11):913-9.
- (3) Transformation of a wobble 2-thiouridine to 2-selenouridine via S-geranyl-2-thiouridine as a possible cellular pathway. Bartos P, Maciaszek A, Rosinska A, Sochacka E, Nawrot B. Bioorg Chem. 2014 Oct;56:49-53.
- (4) Functional diversity of the rhodanese homology domain: the Escherichia coli ybbB gene encodes a selenophosphate-dependent tRNA 2-selenouridine synthase. Wolfe MD, Ahmed F, Lacourciere GM, Lauhon CT, Stadtman TC, Larson TJ. J Biol Chem. 2004 Jan 16;279(3):1801-9.
- (5) Selenomodification of tRNA in archaea requires a bipartite rhodanese enzyme. Su D, Ojo TT, Söll D, Hohn MJ. FEBS Lett. 2012 Mar 23;586(6):717-21.



<b>Sujet du stage</b> (sous forme de titre court) :						
<b>Laboratoire</b>						
Nom du Responsable :	:Fontecave Marc					
Affiliation administrative (CNRS, INSERM...) et n° l'Unité :	CNRS, Collège de France UMR 8229					
Adresse précise du Laboratoire :	Chimie des Processus Biologiques					
	11 place Marcelin Berthelot					
	75005 Paris					
<b>Équipe d'accueil des Doctorants</b>						
Nom de l'équipe:	Enzymologie Moléculaire et Structurale					
Nom du Responsable	Golinelli-Pimpaneau Béatrice					
École Doctorale de rattachement :	Complexité du Vivant, UPMC, Paris VI					
<b>Responsable du Stage</b>						
Nom :	Golinelli-Pimpaneau Béatrice					
Numéro de téléphone :	06	82	36	64	59	
Numéro de télécopie :	01	44	27	13	56	
Adresse électronique :	beatrice.golinelli@college-defrance.fr					
Profil de l'étudiant(e) souhaité :	biologiste moléculaire, biochimiste des protéines					
<b>Renseignements complémentaires</b>						
Perspectives de poursuite de thèse :		<input checked="" type="checkbox"/>	oui			Non
Avec une bourse spécifique :			oui		<input checked="" type="checkbox"/>	Non
si oui précisez :						
<b>Laboratoire d'accueil (Unité CNRS, INSERM, etc..) : CNRS</b>						
Nombre de chercheurs :	5		(dont	3		dans l'équipe d'accueil)
Nombre d'enseignants-chercheurs :	1		(dont	0		dans l'équipe d'accueil)
Nombre de "HDR" :	3		(dont	2		dans l'équipe d'accueil)
Nombre d'ITA :	6		(dont	2		dans l'équipe d'accueil)
Nombre de "post-docs" :	4		(dont	2		dans l'équipe d'accueil)

Nombre de visiteurs étrangers :	0	(dont	0	dans	l'équipe
				d'accueil)	

**Sujet de stage (et principales techniques) : Mechanistic and structural study of an enzyme that substitutes sulfur for selenium in tRNAs**

Besides its presence within the rare amino acid selenocysteine in enzymes, selenium is found in the form of modified nucleosides in certain tRNAs (1). The most abundant selenonucleoside, 5-methylaminomethyl-2-selenouridine (mnm<sup>5</sup>se<sup>2</sup>U), present at the wobble position 34 of tRNAs belonging to the three domains of life, is thought to play a role in the fine tuning of codon-anticodon interactions and thus in translation fidelity. During the last two decades, considerable progress has been made in identifying genes involved in tRNA modification; however the enzymology of the encoded proteins remains to be studied. The present project specifically aims at characterizing biochemically and structurally 2-seleno-uridine-tRNA synthase that catalyzes the replacement of the sulfur atom in 5-methylaminomethyl 2-thiouridine at position 34 of tRNAs with a Se atom to form 5-methylaminomethyl 2-seleno-uridine using selenophosphate as a selenium-donor. The same enzyme was also shown to be responsible for the formation of the newly discovered S-geranyl-2-thiouridine modified nucleotide (ges<sup>2</sup>U) (2) that was subsequently proposed to serve as an intermediate product in the transformation of 2-thiouridine to 2-selenouridine (3).

The *E. coli* enzyme MnmH encoded by the *ybbB* gene is composed of an N-terminal catalytic rhodanese domain and a C-terminal domain containing a P-loop motif (4). Rhodanases are sulfurtransferases, which catalyze the transfer of sulfane sulfur from thiosulfate to cyanide in vitro, via a persulfide attached to a cysteine residue. The catalysis occurs via a double displacement mechanism involving the transient formation of a persulfide-containing enzyme intermediate, in which the transferring sulfur is bound to the invariant catalytic Cys residue. In archaea such as the Methanococcales, a bipartite ortholog of MnmH is present with two different proteins acting in *trans* (5).

The goal is to investigate the molecular mechanisms by which the sulfur atom in 2-thiouridine is replaced with Se, and how MnmH specifically recognizes its tRNA substrates. The different steps of the project are: (i) overexpression and production of the *E. coli* and *Methanocaldococcus jannaschii* enzymes using recombinant molecular biology and protein purification techniques (ii) Characterization of the catalytic activity of the selenium-transferase and ATPase activities of the enzymes (iii) understanding the role of the P-loop motif and identifying key residues, in particular cysteines involved in S/Se transfer using site-directed mutagenesis (iv) decipher the catalytic mechanisms by trapping Se-containing intermediates and using mass spectrometry (v) determination of the three-dimensional structure of the enzymes alone, and in complex with their substrates, in particular tRNA using X-ray crystallography

**References**

- (1) Biochemistry of selenium-derivatized naturally occurring and unnatural nucleic acids. Caton-Williams J, Huang Z. Chem Biodivers. 2008 Mar;5(3):396-407.
- (2) Discovery and biological characterization of geranylated RNA in bacteria. Dumelin CE, Chen Y, Leconte AM, Chen YG, Liu DR. Nat Chem Biol. 2012 Nov;8(11):913-9.
- (3) Transformation of a wobble 2-thiouridine to 2-selenouridine via S-geranyl-2-thiouridine as a possible cellular pathway. Bartos P, Maciaszek A, Rosinska A, Sochacka E, Nawrot B. Bioorg Chem. 2014 Oct;56:49-53.
- (4) Functional diversity of the rhodanese homology domain: the Escherichia coli ybbB gene encodes a selenophosphate-dependent tRNA 2-selenouridine synthase. Wolfe MD, Ahmed F, Lacourciere GM, Lauhon CT, Stadtman TC, Larson TJ. J Biol Chem. 2004 Jan 16;279(3):1801-9.
- (5) Selenomodification of tRNA in archaea requires a bipartite rhodanese enzyme. Su D, Ojo TT, Söll D, Hohn MJ. FEBS Lett. 2012 Mar 23;586(6):717-21.



# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoires :** Centre de Génétique Moléculaire / Matière et Systèmes Complexes

**Adresses :** CNRS Gif sur Yvette / Université Paris 7 - Denis Diderot

**Responsables de stage :** François AGNES (biologie, Gif) / François GRANER (physique, Paris)

**Email :** francois.agnes@cgm.cnrs-gif.fr, francois.graner@univ-paris-diderot.fr

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** biologie ou physique

**Profil recherché :** interface physique-biologie

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui, dans l'un ou l'autre des laboratoires

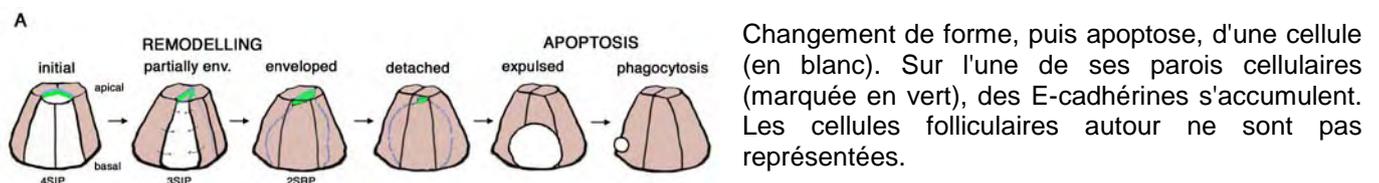
**Financement envisagé :** École Doctorale

**Titre du stage :** Morphogénèse cellulaire et apoptose : le rôle des forces

## Résumé :

Lorsqu'une cellule change de forme au sein d'un tissu, peut-on identifier les forces mises en jeu? Peut-on distinguer la contribution des mécanismes génétiques : signalisations intercellulaires, régulations de l'expression génique, et la contribution des mécanismes physiques : adhésion et pressions, dans l'origine de ces forces ? Ce stage est encadré par des chercheurs de deux équipes.

L'équipe biologiste étudie un modèle de cellules épithéliales dans l'ovaire de drosophile : les cellules polaires. Ce sont des cellules produites en léger excès. Une cellule surnuméraire est éliminée par mort programmée (apoptose). Au préalable, sa géométrie change et elle est enveloppée par ses deux voisines (voir Figure). Sa face apicale, qui est initialement un polygone irrégulier à 5 côtés, perd progressivement des côtés. Simultanément, certains contacts cellulaires renforcent leur adhésion, pendant que d'autres disparaissent.



L'équipe physicienne analyse les formes des cellules d'une façon quantitative: longueurs, angles et courbures des parois cellulaires. De ces données géométriques, elle extrait des informations sur l'équilibre des forces en présence. Ces données de force sont à leur tour incorporées dans un modèle de la mécanique des tissus.

L'étude a pour but de déterminer l'origine et la nature des forces mises en jeu au cours de l'enveloppement des cellules polaires. Elle se limitera dans un premier temps à la surface apicale des cellules, pour restreindre l'étude à deux dimensions.

La-le candidat-e devra avoir des compétences dans au moins un des deux domaines et un intérêt pour l'autre domaine. Il-elle contribuera aux différentes étapes :

- Imagerie : dissections, immunomarquages, microscopie confocale
- Mesures géométriques : longueurs, angles et courbures des parois cellulaires
- Modélisation : mise en équation, inférence de forces

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoires :** Institut Lumière-Matière / Laboratoire Matière et Systèmes Complexes

**Adresses :** Université Lyon 1 – Claude Bernard / Université Paris 7 - Denis Diderot

**Responsables de stage :** Hélène Delanoë-Ayari (expérience, Lyon) / François Graner (analyse, Paris)

**Email :** helene.delanoë-ayari@univ-lyon1.fr, francois.graner@univ-paris-diderot.fr

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

**Profil recherché :** interface physique-biologie, dominante expérimentale

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui, dans l'un ou l'autre des laboratoires

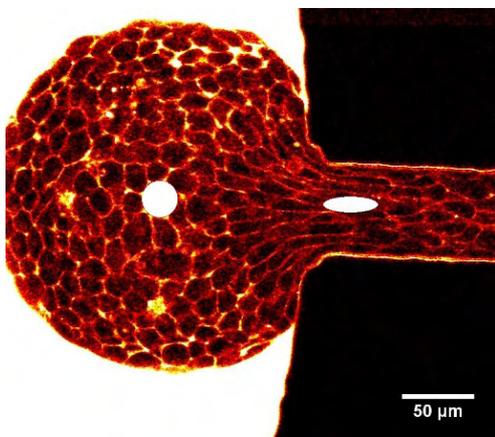
**Financement envisagé :** école doctorale

**Titre du stage :** Measuring stresses inside living tissues

**Résumé :**

*Keywords* : microfluidics, cell aggregates, multi-cellular spheroids, soft probes, tissue mechanics

It is now well acknowledged that mechanics is playing an important role on cell fate and behavior<sup>i</sup>. It is true for processes as different as embryonic development, blood clotting or tumor growth. To understand these behaviors, and disentangle mechanics versus genetics cues, biophysicists currently search to establish a rigorous quantitative description of tissue mechanics. The bottleneck lies in the in-situ determination of forces and stresses within live tissues. In this young and quickly developing field, an idea has recently emerged : introducing well controlled soft probes, of known rigidity, inside living tissues (see Figure).



*Figure : A cellular aggregate aspirated through a microfluidics canal observed in three dimensions using two-photon microscopy. Hypothetic polymeric soft probes (white) illustrate how measuring their deformation will help getting information on the stress within the aggregates. The left probe remains circular while the right probe is strongly deformed.*

Recently, liquid probes have already been successfully introduced<sup>ii</sup>, both in cellular aggregates and in living tissues, providing unique information in the normal stress differences. In order to obtain the complete measurement of stresses, tailor made elastic polymeric probes would be ideal. We have developed feasibility tests and identified the next steps : designing the material with optimal rigidity and size, reproducibly producing spherical micro-probes, introducing them inside tissues, and imaging them in dynamic conditions within the optimal time and space resolution.

The intern will join a collaboration between biophysicists. Experiments will be conducted in the Institut Lumière-Matière (Lyon) while the analysis and modelling will be developed in MSC (Paris).

<sup>i</sup> T. Lecuit, P.-F. Lenne, and E. Munro, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **27**, 157 (2011).

<sup>ii</sup> O. Campàs et al. *Nat. Methods*, **11**, 183 (2013).

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire: Laboratoire de Physique de la Matière Condensée**

**Adresse : Ecole Polytechnique, F-91128 Palaiseau France**

**Responsable de stage : Denis GREBENKOV**

**Email : denis.grebenkov@polytechnique.edu**

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

**Profil recherché: biophysique, physique statistique**

**Possibilité de poursuite en thèse : oui**

**Financement envisagé : non (mais il est possible de postuler pour une allocation de recherche à l'Ecole Polytechnique, à condition d'avoir un dossier excellent**

**Titre du stage : Analyse statistique des trajectoires expérimentales d'un traceur dans les solutions d'actine pour caractériser les mécanismes biophysiques de contraction de muscles et de cœur.**

## **Résumé :**

La génération des forces par contraction des muscles est un processus dynamique complexe qui reste assez mal compris. La présence des molécules d'ATP et d'autres protéines change les propriétés mécaniques du réseau des filaments d'actine. Si l'on place un traceur (une bille) dans ce milieu, ses déplacements (fluctuations thermiques) permettent de caractériser les propriétés viscoélastiques du réseau d'actine. En utilisant la microscopie à force photonique (pinces optiques), il est possible d'enregistrer une trajectoire aléatoire du traceur en temps réel avec une très forte résolution spatio-temporelle. Comme le traceur interagit avec le réseau d'actine, les propriétés statistiques de la trajectoire contiennent des informations indirectes mais uniques sur ce réseau. En variant la composition du milieu (par exemple, les concentrations d'actine, d'ATP et d'autres protéines), on vise à comprendre les rôles respectifs de chaque « ingrédient » dans le mécanisme de contraction. Cette approche est fortement basée sur la capacité de l'analyse statistique des trajectoires aléatoires expérimentales. Comme on enregistre une trajectoire générée par un processus stochastique inconnu, le problème d'un meilleur traitement statistique des données acquises et de leurs interprétations biophysiques plus fiables devient fondamental. Le stage vise à améliorer l'analyse statistique des trajectoires aléatoires expérimentales mesurées à l'EPFL (Suisse) et à identifier les « ingrédients » les plus importants dans le mécanisme de contraction *in vitro*.

Le candidat doit avoir des compétences en biophysique et/ou statistique, de l'expérience en logiciels de programmation (par exemple, Matlab) et de la motivation forte pour la recherche interdisciplinaire. Le stage pourrait éventuellement déboucher sur une thèse à condition de trouver une bourse doctorale (le candidat doit avoir un excellent dossier afin de pouvoir demander une allocation de recherche à l'Ecole Polytechnique).

## **Bibliographie :**

- D. S. Grebenkov, *Probability Distribution of the Time-Averaged Mean-Square Displacement of a Gaussian Process*, Phys. Rev. E **84**, 031124 (2011).
- E. Bertseva, D. S. Grebenkov, P. Schmidhauser, S. Gribkova, S. Jeney, L. Forro, *Optical Trapping Microrheology in Cultured Human Cells*, Eur. Phys. J. E **35**, 63 (2012).
- D. S. Grebenkov, M. Vahabi, E. Bertseva, L. Forro, S. Jeney, *Hydrodynamic and subdiffusive motion of tracers in a viscoelastic medium*, Phys. Rev. E **88**, 040701R (2013)

# « PROPOSITION DE STAGE ET DE THESE »

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

Adresse : 115, avenue Schweitzer, 33600 Pessac

Responsable de stage : Eric Grelet

Email : grelet@crpp-bordeaux.cnrs.fr

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

Profil recherché: Physicien motivé par l'interdisciplinarité et la mobilité géographique (collaborations : Universités d'Eindhoven & d'Oxford)

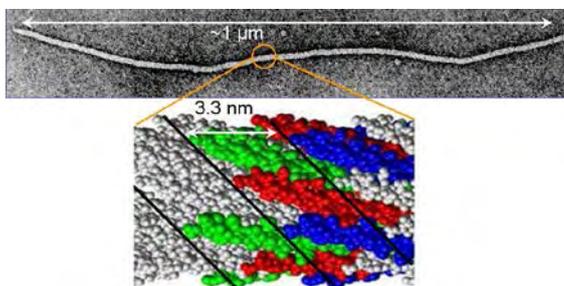
Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Financement envisagé : Financement européen **OBTENU** (2015-2018)

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

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

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



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

## Références :

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

# « PROPOSITION DE STAGE ET DE THESE »

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

Adresse : 115, avenue Schweitzer, 33600 Pessac

Responsable de stage : Eric Grelet

Email : grelet@crpp-bordeaux.cnrs.fr

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

Profil recherché: Physicien motivé par l'interdisciplinarité et la mobilité géographique (collaborations : Universités d'Eindhoven & d'Oxford)

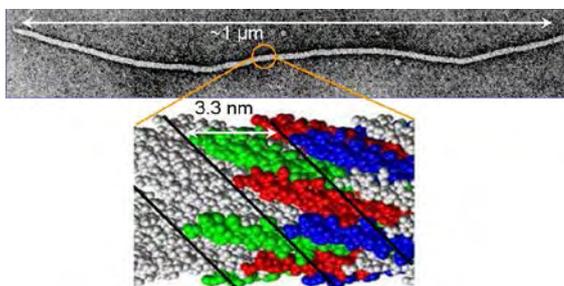
Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Financement envisagé : Financement européen **OBTENU** (2015-2018)

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

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

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



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

## Références :

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

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire: Institut Jacques Monod – Équipe Polarité et Morphogénèse

Adresse : Bâtiment Buffon – 15 rue Hélène Brion

Responsable de stage : Antoine Guichet (responsable de l'équipe)

Email : guichet.antoine@ijm.univ-paris-diderot.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : Ecole Bio Sorbonne Paris Cité

Profil recherché: physique- biologie

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : bourse du ministère et d'autres financements seront demandés

**Titre du stage : Mécanismes contrôlant le positionnement du noyau en relation avec les microtubules dans l'ovocyte de drosophile.**

## Résumé :

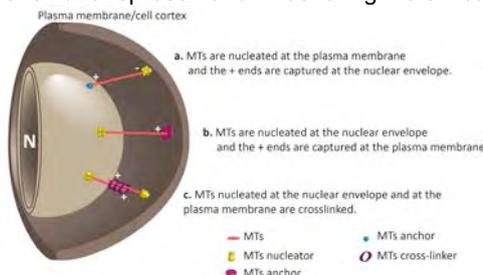
Le positionnement du noyau est important pour de nombreux processus cellulaires, comme le développement du système nerveux et des fibres musculaires. Des défauts dans ce processus de migration conduit au développement de pathologies neuronales et musculaires. Les microtubules, un des constituants principaux du cytosquelette, jouent un rôle essentiel dans ce processus. Mais dans un certain nombre de types cellulaires comme les muscles de mammifères ou l'ovocyte de drosophile, le centrosome n'est pas ou peu nécessaire. **Le but de ce projet est de comprendre les mécanismes moléculaires qui contrôlent le positionnement du noyau en relation avec les microtubules mais indépendamment du centrosome.**

L'ovocyte de drosophile permet de combiner génétique et imagerie à haute résolution dans un système en développement. Nous avons développé une approche par vidéo microscopie confocale sur tissu vivant qui nous permet de suivre en 3D la migration du noyau et la dynamique des microtubules. Nous avons récemment établi que la migration du noyau est assurée un processus de migration utilisant trois modes de migrations différents en association avec des mécanismes moléculaires distincts.

**Le but de ce projet est de (1)** caractériser ces plus avant ces voies moléculaires et d'étudier plus précisément leur complémentarités. **(2)** établir comment les microtubules en absence de centrosomes assurent la migration du noyau et plus précisément comment certains microtubules sont assemblés à partir de l'enveloppe nucléaire. **(3)** Modéliser la migration du noyau en relation avec les microtubules, les moteurs moléculaires, la membrane plasmique de l'ovocyte pour prédire et tester les forces qui assurent le positionnement du noyau.

**La réalisation de ce projets fera appel à des approches multi disciplinaires** incluant génétique, imagerie photonique confocale, analyse et quantification 3D, opto-génétique (en particulier pour l'inactivation et la repousse sélective des microtubules). La modélisation se fera en collaboration avec Bruno Cadot (Institut de la Myologie, Paris) à partir de programmes de simulations existant sur l'impact des microtubules sur les constituant cellulaire.

Schematic representation illustrating the critical points microtubules could control nuclear positioning in the oocyte



## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

**Laboratoire: Unité de RMN des Biomolécules, Institut Pasteur CNRS UMR 3528**

**Adresse : 25-28 rue du Dr. roux 75015 Paris**

**Responsable de stage : Iñaki Guijarro**

**Email : inaki.guijarro@pasteur.fr**

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED 515 - Complexité du Vivant CDV**

**Profil recherché: Physicien, chimiste ou biochimiste/biologiste intéressé par la RMN des protéines ET par la biochimie/biophysique.**

**Possibilité de poursuite en thèse : oui**

**Financement envisagé : Bourse Ecole Doctorale**

**Titre du stage : Structure en solution et auto-assemblage en fibres amyloïdes fonctionnelles de l'hydrophobine RodC du pathogène *Aspergillus fumigatus*.**

### **Résumé :**

Les hydrophobines sont des petites protéines fongiques (< 20 kDa) caractérisées par un motif idiosyncratique de huit résidus de cystéine formant quatre ponts disulfure. Elles présentent des remarquables propriétés physico-chimiques. Les hydrophobines sont produites par les champignons filamenteux sous forme soluble et polymérisent aux interfaces hydrophobe/hydrophile ou air/eau sous forme d'une monocouche amphiphile avec une morphologie en bâtonnets composés de fibres amyloïdes. Chez le pathogène opportuniste *Aspergillus fumigatus*, principale pathogène fongique aéroporté et responsable de maladies souvent mortelles chez les patients immunodéprimés, les hydrophobines RodA et RodC jouent des rôles importants au niveau des spores, le morphotype infectieux. Nos collaborateurs ont effet montré que l'hydrophobine RodA forme une couche de bâtonnets à la surface des spores et les rend inertes vis à vis du système immunitaire (Aimanianda *et al.* Nature, 460, 1117-21, 2009) et que l'hydrophobine RodC est très importante pour la sporulation et essentielle à la survie des spores à température physiologique.

Dans le cadre d'une étude interdisciplinaire visant à établir la structure des formes solubles, le mécanisme de formation de fibres, à caractériser la structure des amyloïdes fonctionnels d'*A. fumigatus* et à décrire le lien entre la structure et la fonction de ces hydrophobines, le projet de M2 consistera en la détermination de la structure de la forme soluble de RodC et en l'étude de son auto-association en fibres amyloïdes *in vitro*. La structure de la forme monomérique de RodC sera établie par RMN. L'auto-association sera suivie par fluorescence de marqueurs de fibres amyloïdes tels que la thioflavine T ainsi que par microscopie électronique. Les cinétiques d'oligomérisation de mutants ponctuels seront caractérisées afin d'identifier les résidus impliqués dans la structure dite  $\beta$ -croisée qui forme la colonne vertébrale des fibres amyloïdes. En parallèle, nos collaborateurs (Unité *Aspergillus* dirigée par J.-P. Latgé, Institut Pasteur) cherchent à déterminer le mécanisme d'action de RodC *in vivo*.

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire : Dynamique du noyau**

**Adresse : 26, rue d'Ulm - Pavillon Pasteur, UMR 3664 Institut Curie / CNRS, 75005 Paris**

**Responsable de stage : Judith Miné-Hattab**

**Email : judith.mine@curie.fr**

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED 505 Complexité du vivant**

**Profil recherché : étudiant en M1**

**Possibilité de poursuite en thèse : non**

**Financement envisagé : oui pour un niveau stage de M1**

**Titre du stage : Direct observation of the chromatin flexibility in the context of DNA damage *in vivo* yeast cells**

**Résumé :**

## **Summary of lab's interests:**

The eukaryotic genome is packaged into large-scale chromatin structures that occupy distinct domains in the nucleus. This DNA organization is a key contributor to genome functions. Our aim is to understand what determines the spatial and temporal behavior of chromatin and how this affects two essential functions of the genome: gene expression and the maintenance of genome integrity. To understand these fundamental processes, we have chosen to use budding yeast as a model system that allows genetics, molecular biology and advanced live microscopy approaches to be combined.

## **Summary of the proposed project:**

In this project, we will estimate the chromatin flexibility *in vivo* yeast cells using advanced microscopy. We will use yeast strains in which 2 DNA sites spaced by 30 kilobases are fluorescently tagged and can be visualized as fluorescent spots by microscopy. By tracking their positions through time, we will measure their relative distance and dynamics *in vivo* cells. We will then use models from polymer physics to estimate the persistence length of chromatin.

Recent studies have shown that DNA mobility is dramatically increased in the presence of DNA double strand break, highlighting the importance of the nuclear dynamics in the maintenance of genome integrity (1). It has been proposed that this increased DNA mobility is due to a change in DNA flexibility, however, this hypothesis has never been tested. In the same yeast strain, we will induce a unique double strand break next to the 2 tagged DNA sites and measure their relative distances. We will thus determine if chromatin flexibility is changed following DNA damage.

(1) Miné-Hattab & Rodney Rothstein, Increased chromosome mobility facilitates homology search during recombination, *Nat Cell Biol*, 8;14(5):510-7, 2012

### **Interdisciplinary aspect of the project:**

The project is highly inter-disciplinary, combining yeast cell biology, genetics, and advanced microscopy. A strong interest in microscopy, image analysis and in cell biology is required. The supervisor will start the yeast strains constructions before the training. The candidate will work on the microscope, on the computer for images analysis (tracking, mean square displacement calculations...). For the interpretation of the results, the candidate will use polymer physics. Background knowledge in biophysics is required.

The UMR 3664 offers a unique environment in biology and epigenetics. The imagery platform is available and two microscopes, a spinning disk and a dual view microscope devoted to yeast experiments for our team. Thanks to collaboration with physicist from the UMR168 at the Curie Institute, we have also access to a super-resolution microscope (PALM).

# « PROPOSITION DE STAGE ET THÈSE »

Laboratoire: Matière et Systèmes Complexes

Adresse : Université Paris Diderot - 4 rue Elsa Morante – 75013 Paris

Responsable de stage : Sylvie Hénon

Email : sylvie.henon@univ-paris-diderot.fr

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

Profil recherché: Physicien.ne

Possibilité de poursuite en thèse : oui

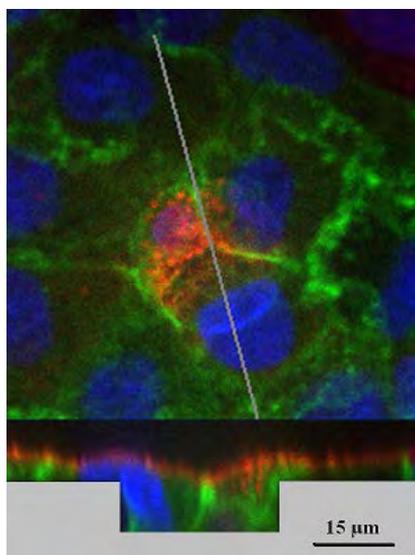
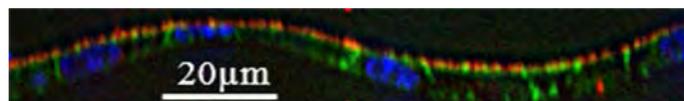
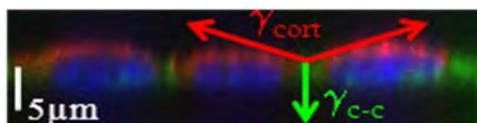
Financement envisagé : Contrat Doctoral de l'ED564

Titre du stage : Epithélium sur substrats micro-structurés

Résumé :

Peut-on utiliser les outils de la physique pour décrire la forme et l'évolution des tissus vivants ? Cette question agite un bon nombre de biophysiciens. Il a en particulier été développé ces dernières années une analogie entre tissus et mousses de savon bidimensionnelles : on a cherché à décrire la forme des cellules au sein d'un épithélium en termes de tensions de ligne et montré les limites de cette analogie.

Le projet proposé ici est d'introduire la 3e dimension : il s'agit de mesurer en microscopie confocale la forme des cellules d'un tissu épithélial cultivé sur substrat plan ou micro-structuré, à la fois dans le plan de la culture et en coupe, et de chercher à modéliser cette forme, en termes de tensions interfaciales et énergies d'adhésion.



Cellules épithéliales cultivées sur substrats plans ou micro-structurés.  
En bleu le noyau, en vert l'actine, en rouge la membrane apicale

## « PROPOSITION DE STAGE ET THÈSE »

Laboratoire: Matière et Systèmes Complexes

Adresse : Université Paris Diderot - 4 rue Elsa Morante – 75013 Paris

Responsable de stage : Sylvie Hénon

Email : sylvie.henon@univ-paris-diderot.fr

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

Profil recherché: Physicien.ne

Possibilité de poursuite en thèse : oui

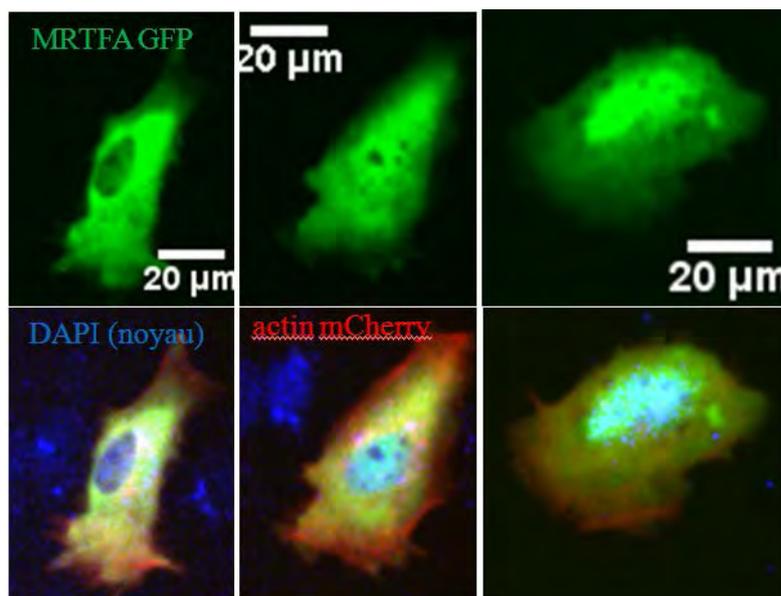
Financement envisagé : contrat doctoral de l'ED564 ou du Labex WhoAml?

Titre du stage : Rôle de Serum Response Factor dans la mécanotransduction de la cellule musculaire

### Résumé :

Nous cherchons à caractériser les premiers stades du remodelage du muscle sous l'action de contraintes mécaniques. Notre collaboratrice biologiste, A. Sotiropoulos à l'Institut Cochin, a montré que Serum Response Factor (SRF), un facteur de transcription, et son co-facteur Myocardin Related Transcription Factor A (MRTF-A) étaient au cœur de ce phénomène. Nous menons des expériences sur cellules pré-musculaires en culture, des myoblastes : nous les soumettons à des contraintes mécaniques contrôlées, et mesurons leur réponse en termes de rigidité, et d'état et de localisation de protéines d'intérêt (MRTF-A et actine en particulier). Pour cela, les expériences sont menées sous microscope de fluorescence, et les protéines d'intérêt sont suivies en temps réel grâce à un couplage avec une Green Fluorescent Protein (GFP) ou une de ses analogues.

Au cours du stage de M2, on étudiera l'effet d'un stress mécanique cyclique sur la localisation de MRTFA et sur l'état de polymérisation de l'actine. Au cours de la thèse on étudiera la boucle de rétro-action entre la localisation de MRTFA, l'état de l'actine (globulaire ou filamenteuse) et son expression sous le contrôle de SRF et MRTFA.



Changement de localisation de MRTFA (en vert) sous l'action d'une contrainte mécanique, de majoritairement cytoplasmique (à gauche) à majoritairement nucléaire (à droite)

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire :** Physique et Mécanique des Milieux Hétérogènes, ESPCI/CNRS/UPMC/Paris Diderot

**Adresse :** 10 rue Vauquelin 75005 Paris

**Responsable de stage :** Julien Heuvingh et Olivia du Roure

**Email :** julien.heuvingh@espci.fr, olivia.duroure@espci.fr

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** ED PIF 564

**Profil recherché :** Physicien intéressé par l'interface avec la Biologie

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

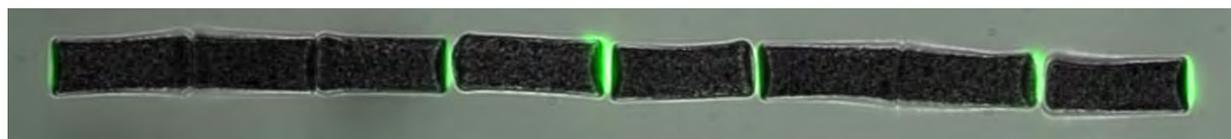
**Financement envisagé :** ED 564 / FDV / IDEX(s)

**Titre du stage :** Mécanique et croissance 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 des propriétés dynamiques et mécaniques 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 billes ou de cylindres magnétiques de quelques microns. Un champ magnétique permet de déformer les gels d'actine reconstitués autour des colloïdes en contrôlant la force dipolaire attractive entre elles. Cette technique est plus simple que les techniques précédemment utilisées comme le microscope à force atomique et permet d'effectuer 100 fois plus de mesures dans un temps identique. Nous avons pu pour la première fois comparer la mécanique de réseaux d'actine 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 a bénéficié d'une amélioration décisive grâce à la fabrication dans notre équipe de colloïdes magnétiques en forme de cylindres ou de cubes (Tavacoli et al. Soft Matter 2013). Ceci nous permet de déformer des réseaux d'actine entre deux surfaces planes pour mesurer un grand nombre de paramètres mécaniques précédemment inaccessibles (élasticité non-linéaire, module visqueux, plasticité, module de Poisson, ...) et d'étudier la croissance sous contrainte des réseaux.

Nous proposons des stages et des thèses dans notre équipe qui peuvent s'orienter dans plusieurs directions : l'étude quantitative de la vitesse de croissance des réseaux d'actine en fonction de leur architecture et de la contrainte mécanique qui leur est appliquée ; l'étude des paramètres mécaniques précédemment inaccessibles des réseaux d'actine, qui permet pour la première fois de se confronter à des modèles théoriques de déformation de réseaux de fibres peu connectées (collaboration M Lenz, LPTMS) ; la recherche d'effets de méchanotransduction dans le cytosquelette en étudiant l'association et l'activité de protéines régulatrices de l'actine sur des réseaux plus ou moins déformés et sur des filaments isolés (collab G Romet Lemonne, IJM) ; l'utilisation de la technique des cylindres magnétiques sur des cellules vivantes pour valider une nouvelle méthode de mécanique cellulaire (collab J Husson, LadhyX).



*Réseau d'actine en croissance depuis la face de cylindres magnétiques (superposition d'images de microscopie fond clair et de fluorescence, hauteur de l'image = 12 $\mu$ m)*

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

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



**Adresse :** LadHyX, Ecole Polytechnique, Route de Saclay, 91128 Palaiseau Cedex

**Responsable de stage :** Julien Husson

**Email :** julien.husson@ladhyx.polytechnique.fr

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** Ecole Doctorale de l'Ecole Polytechnique (EDX)

**Profil recherché:** Intérêt pour les approches expérimentales

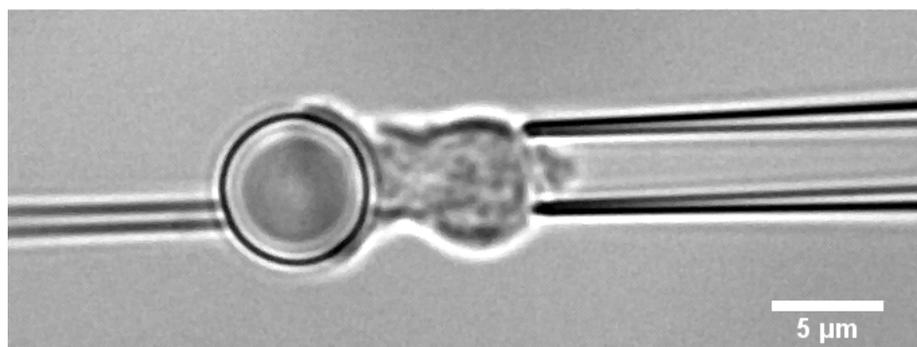
**Possibilité de poursuite en thèse :** Oui

**Financement envisagé :** demande possible de bourse via l'Ecole Polytechnique

**Titre du stage :** Force generation by leukocytes

**Résumé :** There is an increasing number of observations that many biological processes have mechanical aspects: cells develop forces on substrates, organ tissues or other cells. This allows them to test their environment, adapt to their mechanical properties and respond adequately. We study the mechanics of leukocytes and their interactions with other cell types (immune and endothelial cells). Although molecular biology has led to an understanding of many processes down to a molecular level, the knowledge of mechanical factors involved (e.g. forces, cell stiffness, cell viscosity) is paradoxically in its infancy. Understanding these factors is increasingly recognized as important for a better understanding of cell-cell interactions in physiological and pathological contexts. The dichotomy between a detailed molecular knowledge and a virtual absence of information on mechanical aspects is underlined in one of our research interest: T lymphocytes.

T lymphocytes are key cells of the immune system, involved in the response against pathogens or tumor cells. In order to become active, they need to interact directly with other cells of the immune system, called antigen presenting cells (APC) or with their targets, i.e. infected cells or tumor cells. These cell-cell interactions are organized in time and space by the formation of a zone of contact: the immune synapse (IS). In a previous study, we have shown that T lymphocytes develop measurable pulling forces against a model APC, that these forces are dependent of actin remodeling and that they adapt to the rigidity of the APC [1]. These results suggest that T lymphocytes sense their mechanical environment. We recently developed a micropipette-based force probe that enables us to measure both pushing and pulling forces in the nanonewton range (Fig. 1).



*Figure 1. A T lymphocyte held by a micropipette (right) is generating forces on a microbead covered with antibodies (left). The microbead is held by a flexible micropipette used as a calibrated spring.*

The aim of the internship is to use this new technique to characterize the force generated by human T lymphocytes on model APCs made of antibody-covered microbeads. The student will study how these forces adapt to the stiffness of their environment. The role of molecules will be tested using: fluorescent-tagged proteins, and inhibition of molecules with drugs or specific si or shRNA. This work will unravel important mechanisms generally involved in mechanotransduction. It might also prove to be useful for application in immunotherapy.

The project is a collaborative work between two groups, the biomechanics group of Julien Husson (LadHyX, Ecole Polytechnique) and the immunology group of Claire Hivroz (INSERM U932, Institut Curie). These groups have already collaborated together. The questions asked are relevant for both scientist communities. The student will work in close collaboration with both teams. He/she will get the opportunity to be exposed to state of the art knowledge and techniques in both fields.

[1] Husson J, Chemin K, Bohineust A, Hivroz C, Henry N (2011) Force Generation upon T Cell Receptor Engagement. PLoS ONE 6(5): e19680.

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire:** CNRS-UMR168, Institut Curie; Directeur: M. Dahan

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

**Responsable de stage :** Hervé Isambert (DR, CNRS)

**Email :** [herve.isambert@curie.fr](mailto:herve.isambert@curie.fr), <http://umr168.curie.fr/en/isambertlab>

**N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement :** EDITE ou FDV

**Profil recherché:** Physicien ou (bio)informaticien

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** MESR ou financement via projet de recherche

**Titre du stage :** Reconstruction and Analysis of Biomolecular Networks from Large Scale Data

## Résumé :

Biomolecular networks play important roles in many vital processes, including cell differentiation, organismal development, response and adaptation to environmental challenges, as well as in the diseases that result from their dysregulation.

However, despite many studies on the topology and functions of biomolecular networks, they have remained difficult to analyze and reconstruct from observational data, due to the lack of available large scale data and also efficient inference methods. Yet, this context is now changing with the tremendous increase in the available genomic and cellular data coming from next generation high-throughput techniques such as deep sequencing techniques, multicolor high-resolution fluorescence microscopy, light sheet microscopy, etc. This avalanche of quantitative multi-variable data now calls for the development of efficient information theoretic approaches to reliably reconstruct and analyze biomolecular networks from large scale experimental data. From our recent studies (1-4), we expect in particular that many statistically significant correlations in biomolecular network data actually result from indirect rather than direct interaction pathways, which may even frequently oppose each other. This highlights the need to rely on more advanced inference methods to analyze the multiple, direct, and indirect pathways underlying the functions of biomolecular networks.

In this project, we will study biomolecular networks at two complementary levels of description.

At molecular scales, we will use a novel hybrid approach (3) combining constrain-based methods (5) and score-based, bayesian inference methods (6) to infer individual regulatory interactions of gene regulatory networks from recent available data. This novel type of inference methods, which does not require any arbitrary threshold to set significance levels, has been shown to clearly out-performed both constrain-based and score-based as well as other hybrid inference methods (7) on benchmark networks. In addition, it was also found to retain a high precision (i.e. proportion of true positive predictions) when the amount of available data is not sufficient to recover the entire network (i.e. low sensitivity regime).

At broad systems level, we will use the Mediation analysis framework (8) that we have recently adapted to genomic analysis (1). The Mediation framework, developed in the context of causal inference analysis, aims at uncovering, beyond statistical correlations, causal pathways along which changes in multivariate properties are transmitted from a cause, such as an environmental stress, to an outcome, such as a phenotypic effect. We will develop a multivariate mediation analysis which extends the single mediator causal inference approach used in (1) and apply such information theoretic approach to analyze the function and evolution of biomolecular signalling pathways in terms of their transmission of information (9,10). Such network properties will also be interpreted using evolutionary models developed in the group to understand the role of duplication-divergence constraints on the long-term evolution of biomolecular networks (11-14).

Academic requirements: Physicist or Computer scientist Master student with a strong interest in biology and evolution topics. Good programming skills. Possibility to continue with a PhD project providing a PhD fellowship can be obtained (from doctoral School or a research grant).

## References

- 1 P.P. Singh, S. Affeldt, I. Cascone, R. Selimoglu, J. Camonis & H. Isambert, On the expansion of "dangerous" gene repertoires by whole genome duplications in early vertebrates, *Cell Rep*, 2(5):1387-1398 (2012).
- 2 P.P. Singh, S. Affeldt, G. Malaguti & H. Isambert, Human dominant disease genes are enriched in paralogs originating from whole genome duplication. *PLoS Comp Biol*, 10(7):e1003754 (2014).
- 3 Affeldt S. and Isambert H. Robust reconstruction of causal graphical models from genomic data. Under review (2014).
- 4 G. Malaguti, P.P. Singh & H. Isambert, On the retention of gene duplicates prone to dominant deleterious mutations, *Theor Popul Biol* 93:38-51 (2014).
- 5 Spirtes P, Glymour C, Scheines R., *Causation, Prediction, and Search* (Cambridge, The MIT Press, 2001).
- 6 Friedman N, Inferring cellular networks using probabilistic graphical models *Science*, 303(5659):799-805 (2004).
- 7 Margolin AA, Nemenman I, Basso K, Wiggins C, Stolovitzky G, Dalla Favera R, Califano A., ARACNE: an algorithm for the reconstruction of gene regulatory networks in a mammalian cellular context, *BMC Bioinformatics*, 7 Suppl 1:S7 (2006).
- 8 J. Pearl, *Causality: models, reasoning and inference* (New York: Cambridge University Press) (2009).
- 9 Cheong R, Rhee A, Wang CJ, Nemenman I, Levchenko A., Information transduction capacity of noisy biochemical signaling networks, *Science*, 334(6054):354-8 (2011).
- 10 Uda S, Saito TH, Kudo T, Kokaji T, Tsuchiya T, Kubota H, Komori Y, Ozaki Y, Kuroda S., Robustness and compensation of information transmission of signaling pathways, *Science*, 341(6145):558-61 (2013).
- 11 R.R. Stein & H. Isambert, Logistic map analysis of biomolecular network evolution, *Phys Rev E*, 84:051904 (2011).
- 12 K. Evlampiev & H. Isambert, Conservation and Topology of Protein Interaction Networks under Duplication-Divergence Evolution, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105, 9863-9868 (2008).
- 13 M. Cosentino-Lagomarsino, P. Jona, B. Bassetti & H. Isambert, Hierarchy and Feedback in the Evolution of *E. coli* Transcription Network, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104 (13), 5516 (2007).
- 14 A.L. Sellerio, B. Bassetti, H. Isambert & M. Cosentino Lagomarsino, A comparative evolutionary study of transcription networks: The global role of feedback and hierarchical structures, *Mol. BioSyst.*, 5(2), 170-9 (2009).

# « PROPOSITION DE STAGE »

**Laboratoire :** Laboratoire TIMC-IMAG

**Adresse :** Faculté de Médecine de Grenoble, 38703 La Tronche Cedex

**Responsable de stage :** Daniel Jost

**Email :** daniel.jost@imag.fr

**Profil recherché :** biologie computationnelle, biostatistique, physique statistique

**Titre du stage :** *Computational modeling of replication in eukaryotes: impact of 3D chromatin organization*

## Résumé :

DNA replication is a fundamental biological process leading to the production of two identical copies of the original DNA template. It is the key ingredient of biological inheritance and occurs in all living organisms. While in bacteria or yeast, replication starts from well-defined locations, the so-called origins of replication, in multicellular organisms, there is no clear consensus sequence where initiation may occur [1]. However, recent experimental techniques allow to access genome-wide to valuable information on replication like the replication timing [2,3]. These data strongly suggest that the 3D chromatin architecture may play an important role in the different steps of the replication [4], however the mechanisms behind this role are still unclear.

In this project, we will address this question using mathematical and computational modeling. In particular, we will be interested in understanding the impact of chromatin organization on the replication firing and timing, using the fly *Drosophila melanogaster* as a model system. In this organism, data on the replication timing, the position of origin of replication complexes [3] and the 3D chromatin organization [5] are available and allow to build a realistic model for replication and to verify quantitatively its predictions. In a first part, the student will have to acquire the different experimental data available on the replication in drosophila and to make a statistical analysis of these data. A second part will consist in building the model and to code the program. In particular, we aim to describe the stochastic dynamics of individual replication forks at the single cell level and to do statistics at the population level. In a third part, the student will investigate the behavior of the model on toy examples by systematically analyzing the impact of the different model parameters. Finally, the student will apply the model to the replication program of drosophila and learn the corresponding model parameters. This final step will allow quantifying how the 3D chromatin architecture impacts on the replication program.

The student should have a strong background in computer programming and in statistics or statistical physics.

## References:

1. Bell SP, Dutta A. Annu Rev Biochem 71: 333–374 (2002).
2. Chen CL, et al. Genome Res 20: 447–457 (2010).
3. Eaton ML, et al. Genome Res 21: 164-174 (2011).
4. Rhind N, Gilbert DM. Cold Spring Harb Perspect Biol 5: a010132 (2013).
5. Sexton T, et al. Cell 148:458-472 (2012).

# « PROPOSITION DE STAGE »

**Laboratoire :** Laboratoire TIMC-IMAG

**Adresse :** Faculté de Médecine de Grenoble, 38703 La Tronche Cedex

**Responsable de stage :** Daniel Jost

**Email :** daniel.jost@imag.fr

**Profil recherché :** biologie computationnelle, biostatistique, physique statistique

**Titre du stage :** *Dynamic response of genetic regulatory networks in fluctuating environments*

## Résumé :

With the important mass of data generated by high-throughput genetics and systems biology experimental techniques, a big challenge of quantitative biology remains to map and characterize the genetic ground of complex phenotypes. An even bigger challenge is then to use this knowledge to predict the responses and functions of biological networks to changing environments. In the wild, living systems have evolved under complex fluctuating environments that likely structured their genome to improve adaptation to changing conditions. Therefore, understanding the roots of genotype-phenotype control assumes understanding how this control behaves in various environmental dynamics. In the past years, geneticists have started to address first theoretically and later experimentally the question of phenotypic adaptation in fluctuating environments [1,2,3]. The main results being that reactive or sensing mechanisms are better adapted for slow dynamics while genetic strategies leading to phenotypic diversity, known as bet-hedging, are more appropriate for fast or random dynamics. However, it is still not clear whether natural alleles found in wild strains confer different strategies of adaptation to environmental fluctuations and how gene-environment and gene-gene interactions may have been selected to optimize the network response to some environmental constraints.

We propose to investigate the effect of genetic diversity on the behavior of the network for various types of fluctuating environments with the galactose uptake pathway in yeast as a model system. For this purpose, using the parameters inferred from a previous study [4], the student would run exact stochastic simulations of this system under various dynamics. Typically, we will let the environment fluctuate between two concentrations of galactose, and we will numerically monitor how the steady-state behavior of the system depends on the ranges of concentrations (low, high, large or small differences between the two, etc.) and on the dynamics of transitions between the environments (fast, slow, random, periodic, etc.). For each polymorphism and each environmental dynamics, the student will classify the predicted behaviors between buffering, adaptive or noisy responses. Of particular interest will be the investigation of gene-environment interactions where the response of the network is significantly different between constant and dynamic environment. This project will be done in close collaboration with the experimental team of Gael Yvert (LBMC, ENS Lyon).

The student should have a strong background in computer programming and in statistics or statistical physics.

## References:

1. R.C. Lewontin & D. Cohen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 62, 1056-1060 (1969).
2. E. Kussel & S. Leibler. *Science* 309, 2075-2078 (2005).
3. M. Acar, J. T. Mettelal & A. van Oudenaarden. *Nature Genet.* 40, 471-475 (2008).
4. H. Duplus, F. Chuffart, D. Jost & G. Yvert. *In preparation*.

# « 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 (iEES), Christian HARTMANN (IRD)

**Téléphone :** 01-40-79-58-04 **Email :** evelyne.kolb@upmc.fr

**N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées :** EDPIF

**Possibilité de poursuite en thèse :** Oui

**Financement envisagé :** Ecole doctorale

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

**Résumé :** Il existe relativement peu d'études consacrées à la morphogénèse sous contrainte mécanique de systèmes vivants dans le domaine végétal et encore moins sur les racines dont le développement souterrain limite l'observation. 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 (Fig. 2).

Plus généralement, nous envisageons de modéliser le comportement élémentaire des racines dans des systèmes modèles. Partant de la géométrie 2D de constriction localisée présentée précédemment, nous allons progressivement complexifier les systèmes expérimentaux d'observation et de quantification de l'impact d'une contrainte mécanique sur une jeune racine puis sur une architecture racinaire. L'élasticité locale du sol vue par la racine sera modélisée expérimentalement par des tubes de polymère de rigidité ajustable (Fig. 3) dans lesquels la racine est amenée à croître. Une fois les mécanismes élémentaires de réaction à la contrainte mécanique identifiés sur des paramètres morphologiques simples de la racine tels que les vitesses de croissance axiale versus radiale, les ramifications, leur nombre et les angles des branchements, nous pourrions complexifier la géométrie dans laquelle la racine est contrainte pour s'approcher d'un sol granulaire en utilisant par exemple un substrat composé de billes de verre ou de billes de gel de polyacrylate permettant une adaptation d'indice dans l'eau. En parallèle, nous mènerons des mesures de caractérisation mécanique de la racine.

Ce sujet contribuera à mieux comprendre les mécanismes conduisant à la réorganisation d'un milieu sous l'action du développement racinaire et la capacité d'un système racinaire à pénétrer un substrat. Ces résultats serviront également à valider les modèles théoriques de croissance et d'architecture racinaire, en collaboration avec des équipes de Montpellier dans le cadre d'un projet commun RoSOM (Influence of root-soil mechanical interaction on the variability of root architecture, projet financé par Agropolis Fondation et supervisé par T. Fourcaud- UMR AMAP et F. Radjai- UMR LMGC).



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).

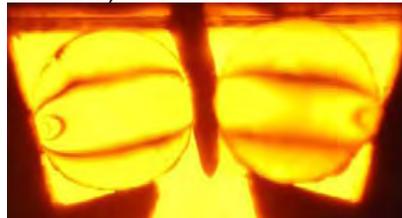


Fig. 2 : Croissance d'une racine de pois-chiche ( $\varnothing \approx 1$  mm) entre deux disques photoélastiques. La position et le nombre de franges noires apparaissant dans les disques éclairés en lumière monochromatique entre polariseurs circulaires permet de remonter à la force radiale exercée par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

**Laboratoire :** Laboratoire de Physique des Lasers, Atomes, Molécules, UMR CNRS/Lille 1 8523

**Adresse :** Université Lille 1, Cité Scientifique, 59655 Villeneuve d'Ascq Cedex

**Responsable de stage :** Marc LEFRANC (<http://www.phlam.univ-lille1.fr/spip.php?article65&lang=fr>), en collaboration avec Bart STAELS et Hélène DUEZ (Unité INSERM 1011, Université Lille 2 et Institut Pasteur de Lille)

**Email :** [marc.lefranc@univ-lille1.fr](mailto:marc.lefranc@univ-lille1.fr)

**N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement :** ED 104 Sciences de la Matière, du Rayonnement et de l'Environnement (SMRE)

**Profil recherché:** Modélisation, dynamique non linéaire, avec un fort intérêt pour la biologie expérimentale dans un contexte médical et pharmacologique

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** oui. Stage : Labex CEMPI (Centre Européen pour les Mathématiques, la Physique et leurs Interactions), Thèse : bourse « Président », ED SMRE ou Labex CEMPI (sujet prioritaire).

**Titre du stage :** Modélisation du couplage entre horloge circadienne et métabolisme. Application à la compréhension de désordres métaboliques.

**Résumé :** La plupart des organismes voient leur vie rythmée par l'alternance des jours et nuits, qui induit des variations périodiques de leur environnement. Pour anticiper ces variations, beaucoup ont développé une horloge circadienne, un réseau de gènes et de protéines qui interagissent de manière à engendrer des oscillations biochimiques d'une période d'environ 24 heures. La modulation de ces horloges par un signal externe, comme la lumière, permet de les aligner parfaitement sur le cycle jour/nuit et de fournir une mesure interne du temps, de manière à orchestrer différentes fonctions biologiques tout au long du cycle.

Chez les organismes supérieurs, comme les mammifères, le système circadien est constitué d'un réseau complexe, où une horloge centrale localisée dans le cerveau synchronise tout un ensemble d'horloges « périphériques » localisées dans les différents organes (foie, pancréas, poumons, ...), chaque horloge étant adaptée à la fonction de l'organe. Pour se mettre à l'heure, ces horloges périphériques se calent sur différents signaux en provenance de l'horloge centrale, mais également sur des signaux qui leur sont propres. Ainsi, l'horloge du foie, qui joue un rôle central dans l'homéostasie énergétique, est-elle principalement sensible aux cycles de nourriture/jeûne, qui la remettent à l'heure plus facilement que le cycle lumière obscurité. L'importance de cette horloge dans plusieurs désordres métaboliques apparaît de plus en plus clairement : non seulement des mutations de gènes de l'horloge induisent des pathologies métaboliques (obésité, diabète,...), mais encore un stress nutritionnel dérègle l'horloge. Il est donc important de comprendre comment les horloges du foie et d'autres tissus se couplent au métabolisme et le pilotent, afin d'éclairer l'origine de certaines pathologies, et de concevoir des protocoles thérapeutiques.

Lors d'un premier travail, un premier modèle mathématique de l'horloge du foie incorporant deux senseurs métaboliques a été construit. Ce modèle, basé sur un système d'équations différentielles, reproduit avec précision des données expérimentales de la littérature, et a permis d'expliquer certaines observations expérimentales. Lors du stage, et de la thèse qui pourrait suivre, nous nous attacherons à comprendre les principes architecturaux de cette horloge et de sa synchronisation par les cycles de nourriture/jeûne. Nous essaierons de comprendre comment des cycles de nourriture perturbés, ou un stress nutritionnel, modifient les propriétés de cette horloge, et essaierons de comprendre quelles actions pharmacologiques peuvent être envisagées afin de rétablir un fonctionnement physiologique.

Ce travail fait appel à des compétences en dynamique non linéaire des oscillateurs, modélisation, calcul numérique (sous linux, en C/C++ ou matlab). Il s'effectuera en collaboration étroite avec un laboratoire de l'Institut Pasteur de Lille reconnu internationalement dans l'étude du diabète et des maladies cardio-vasculaires, où une immersion dans les aspects expérimentaux du sujet sera possible, et même encouragée.

# PROPOSITION DE STAGE ET THÈSE

**Laboratoire : Approches physiques de la dynamique Cellulaire - IBDM**

**Adresse : Campus de Luminy, Université d'Aix-Marseille, Marseille**

**Responsable de stage : Pierre-François LENNE**

**Email : pierre-francois.lenne@univ-amu.fr**

**N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ESDVS – ED 62**

**Profil recherché : Physicien expérimentateur et/ou théoricien, biophysicien**

**Possibilité de poursuite en thèse : OUI**

**Financement envisagé : BOURSE LABEX - INFORM (4 ans de bourse)**

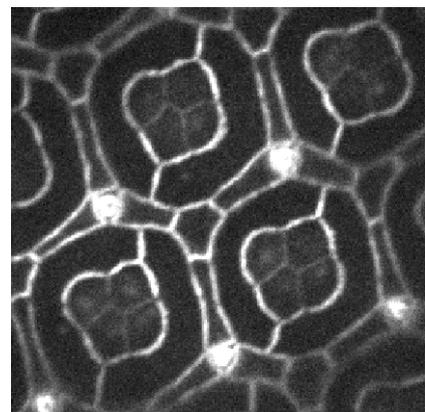
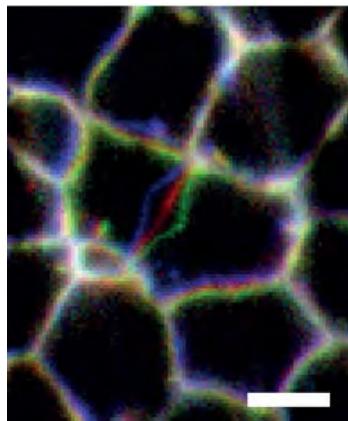
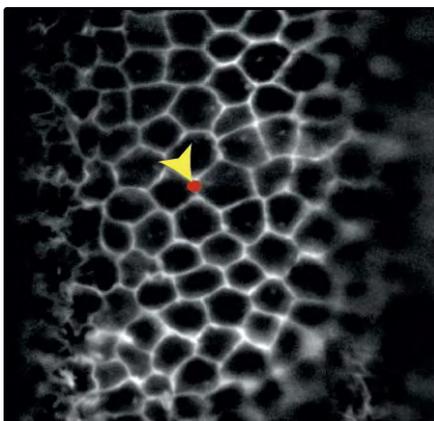
**Titre du stage : Forces et formes cellulaires durant la morphogenèse d'un tissu**

## Résumé :

Durant la morphogenèse des tissus et des organes, les cellules changent de forme, migrent, se divisent ou meurent. Ces comportements cellulaires, coordonnés spatialement et temporellement, génèrent des formes tissulaires variées. Nous cherchons à comprendre comment les forces produites au niveau cellulaire conduisent aux formes tissulaires. Le stage a pour but de mesurer les forces aux contacts cellulaires lors de la morphogenèse d'un tissu. Pour cela, l'étudiant combinera des mesures locales de force à une méthode globale d'inférence de force. Les mesures locales de force utilisent une méthode originale fondée sur le piégeage optique, tandis que la méthode d'inférence est une méthode inverse fondée sur l'analyse de la forme des contacts cellulaires. Ce travail permettra d'établir une relation constitutive, qui lie les forces aux déformations. Le système modèle est l'embryon de *Drosophile* à des stades précoces du développement, qui se prêtent particulièrement bien à des approches quantitatives. L'équipe d'accueil est interdisciplinaire et comprend des physiciens, biologistes et ingénieurs.

*Mots clés* : mécanique cellulaire, pinces optiques, interactions cellulaires

<http://www.ibdm.univ-mrs.fr/equipe/physical-approaches-to-cell-dynamics/>



# PROPOSITION DE STAGE ET THÈSE

**Laboratoire : Approches physiques de la dynamique Cellulaire – IBDM**

**Adresse : Campus de Luminy, Université d'Aix-Marseille, Marseille**

**Responsable de stage : Pierre Recouvreux et Pierre-François Lenne**

**Email : pierre.recouvreux@univ-amu.fr**

**N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ESDVS – ED 62**

**Profil recherché : Physicien expérimentateur et/ou théoricien, biophysicien**

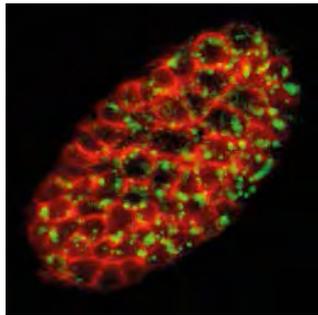
**Possibilité de poursuite en thèse : OUI**

**Financement envisagé : BOURSE LABEX - INFORM (4 ans de bourse)**

**Polarisation tissulaire : caractérisation physique de la signalisation Wnt durant la morphogenèse d'un organisme**

**Résumé :**

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).



Dans ce contexte, nous nous intéressons au processus de signalisation biochimique qui contrôle la destinée cellulaire des précurseurs neuronaux dans un organisme modèle, le nématode *Caenorhabditis elegans*. Ces processus sont basés sur la sécrétion du ligand Wnt par un groupe de cellule situé dans la partie postérieure de l'embryon, les cellules ciblées par ce ligand sont quant à elles situées dans la partie antérieure de l'embryon (1). Nous proposons donc d'utiliser les outils de microscopie quantitative à disposition dans notre laboratoire pour étudier cette signalisation à longue portée.

En particulier nous souhaitons caractériser la diffusion du ligand Wnt dans le tissu en développement. Pour cela nous proposons de réaliser des expériences de fluctuations de fluorescence (FCS) sur des embryons exprimant une version marquée de Wnt. Ces expériences donneront accès aux constantes de diffusion du ligand Wnt et à la façon dont cette protéine diffuse dans le tissu : il sera important de déterminer si Wnt diffuse sous forme libre, associé à d'autres protéines ou bien à des vésicules.

Il sera également possible de caractériser l'interaction entre le ligand Wnt et son récepteur. Pour cela nous proposons de réaliser des expériences de microscopie par feuille de lumière (3), un système développé dans notre laboratoire.

Les informations obtenues par ces expériences pourront être utilisées pour développer une modélisation afin de comprendre comment est régulé de façon spatio-temporelle la signalisation Wnt dans l'embryon de *C. elegans*.

L'équipe d'accueil est interdisciplinaire et comprend des physiciens, biologistes et ingénieurs. Ce travail, à l'interface de la physique et de la biologie, sera mené en collaboration avec l'équipe de Vincent Bertrand (*Polarisation et décisions binaires au sein du système nerveux*, IBDM).

**Mots clés :** Wnt, diffusion, FCS, feuille de lumière, modèle

<http://www.ibdm.univ-mrs.fr/equipe/physical-approaches-to-cell-dynamics/>

## « 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 :**

Réponse mécanique des réseaux branchés d'actine  
(stage théorique)

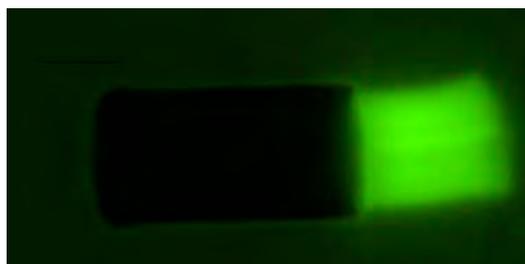
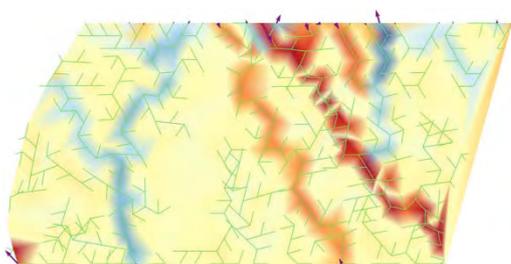
**Résumé :**

L'architecture des cellules vivantes est largement déterminée par un réseau microscopique de filaments semi-rigides : le cytosquelette d'actine. En plus d'assurer l'intégrité mécanique de la cellule, sa croissance permet à celle-ci de se mouvoir et d'exercer des forces. Ce rôle crucial est joué par des réseaux d'actine dits branchés, constitués d'un assemblage fractal aléatoire de filaments et de points de branchement.

Malgré son importance au sein de la cellule, la rigidité de ces réseaux n'est pas comprise du point de vue théorique. En effet, la seule prise en compte de la rigidité des filaments et des points de branchement prédit un module élastique nul pour le gel, en contradiction avec les expériences. *Nous examinerons l'origine de la rigidité de ces réseaux, en envisageant notamment l'effet des contraintes de l'enchevêtrement du réseau branché avec lui-même, qui génèrent des interactions non-locales entre points du réseau élastique.* Étant donné la difficulté de traiter de telles interactions de manière exacte, nous aurons recours à des approches de champ moyen dont la validité sera vérifiée par des simulations numériques.

D'un point de vue expérimental, nos collaborateurs Olivia du Roure et Julien Heuvigh (ESPCI) détiennent un montage permettant la première caractérisation propre du seul réseau d'actine branché. Nous travaillerons avec eux pour relier nos modèles aux caractéristiques d'un réseau formé sous force (comme dans la cellule), son élasticité non-linéaire etc.

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



Modèle numérique de réseau branché & croissance d'un gel branché *in vitro*

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire: Equipe "Dextérité Manuelle en Santé et Maladie", CNRS FR3636.

Adresse : Université Paris Descartes, 45 Rue des Saints Pères, 75270, PARIS CEDEX 06, France

Responsable de stage : Selim Eskiizmirli (MCF, Université Paris Diderot)

Email : [Selim.Eskiizmirli@parisdescartes.fr](mailto:Selim.Eskiizmirli@parisdescartes.fr)

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED3C ED No: 158 ou FDV, ED No: 474

Profil recherché: M1 en Bioinformatique, Biomédicale, en Mathématiques appliqués, en Physique, en Informatique, en Ingénierie des Systèmes.

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

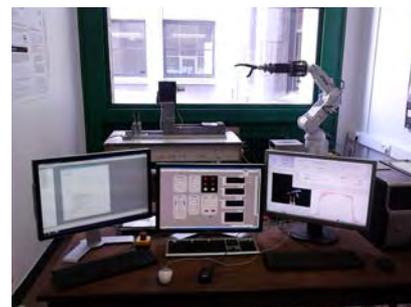
Financement envisagé : Projet ANR ou financement de l'ED

Titre du stage : Contrôle dynamique d'une main artificielle à deux doigts mus par des muscles artificiels pour un Interface Cerveau Machine (ICM).

Résumé :

Un des projets de recherche effectués au sein de notre équipe " **Dextérité Manuelle en Santé et Maladie**" ( <http://www.biomedicale.parisdescartes.fr/Manual-dexterity-in-health-and.html> ) consiste à étudier le contrôle des mouvements des doigts d'une main artificielle à l'aide de modèles biomimétiques utilisant comme entrée les signaux réels (des cellules du Cortex Moteur (CM)) enregistrés in vivo chez le singe au cours du mouvement. Dans le cadre d'un projet ANR en cours (GRASP) nous avons déjà appliqué notre approche ICM à la reproduction des mouvements cinématiques de l'index et du pouce du singe -enregistrés lors des expérimentations de la prise de précision et de prise de côté- sur une main mécanique à deux doigts (ayant 11 degrés de liberté (ddl)) mue avec des muscles artificiels. Pour l'état actuel du système voir: [https://dl.dropboxusercontent.com/u/42678313/BMI\\_setup2\\_high\\_res.mov](https://dl.dropboxusercontent.com/u/42678313/BMI_setup2_high_res.mov)

Dans la deuxième étape du projet nous travaillons sur l'intégration du contrôle dynamique de la main dans l'ICM afin d'assurer la réalisation des forces nécessaires en tenant en compte et utilisant les signaux EMGs des muscles impliqués dans les mouvements du poignet et des différentes phalanges des ces deux doigts. Le contenu du stage consistera ainsi d'une part à la participation aux travaux de développement du contrôle dynamique du système existant et d'autre part à effectuer les expérimentations de reproduction des mouvements de prise de précision ainsi que la performance du contrôle du système en temps réel par le singe. Une connaissance de base en programmation (de préférence en Matlab (ou Scilab) et en C++) est obligatoire pour ce stage qui sera réalisé en collaboration avec



**Thomas Brochier (INCM, CNRS, Marseille)**

**Michele Tagliabue (Ingénieur de Recherche, Université Paris Descartes)**

**Olivier Bertrand (Etudiant en thèse, Universität Bielefeld)**

**Prof. Marc Maier (Prof., Université Paris Diderot)**

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire :** Institut des Sciences Moléculaires d'Orsay (ISMO)

**Adresse :** Université Paris Sud 11, Bâtiment 350, F-91405 Orsay cedex

**Responsable de stage :** Christian Marlière

**Email :** [christian.marliere@u-psud.fr](mailto:christian.marliere@u-psud.fr)

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** EDOM (Ecole doctorale Ondes et Matière, ED 288)

**Profil recherché :** Physicien intéressé par les problématiques biologiques

**Possibilité de poursuite en thèse :** OUI

**Financement envisagé :** Bourse ED

**Titre du stage :** Méthodes physiques avancées pour le suivi à l'échelle moléculaire de la biocontamination surfacique : vers le développement de nouvelles surfaces bioactives.

### Résumé :

La recherche récente menée sur la compréhension de l'adhésion des bactéries aux surfaces met en perspective l'élaboration de surfaces anti-biocontamination et /ou biocides plus performantes que celles actuellement proposées. Deux équipes de l'ISMO réunissent un ensemble de méthodes physiques (spectroscopie vibrationnelle par génération de fréquence somme (SFG) à large bande, microscopie à sondes locales, microscopie de fluorescence) permettant d'imager, quantifier et décrire à l'échelle moléculaire les processus d'adhésion de biomolécules (bactéries, protéines) sur des substrats ordonnés de type surfaces « brosse » (SAM d'ODT) utilisées comme surface anti-biocontamination. Nous avons pu ainsi proposer un mécanisme de l'adhésion bactérienne en présence ou non de protéines, et montrer que ces dernières, omniprésentes dans les environnements naturels, jouaient un rôle essentiel dans le processus d'adhésion<sup>1,2</sup>.

Nous proposons au cours de ce stage de poursuivre la description du processus de biocontamination surfacique selon plusieurs approches :

- étendre les possibilités d'utilisation de nos méthodes physiques. En particulier il est possible d'adapter la configuration du montage expérimental de spectroscopie vibrationnelle SFG à large bande, pour sonder (i) la surface du substrat (ce qui a été utilisé jusqu'à présent), (ii) la fonction amide des protéines adsorbées et ainsi identifier leurs changements de conformation en absence et en présence de bactéries et (iii) la présence, l'organisation et le rôle d'un film d'eau interfacial entre le support et les biomolécules. La microscopie à sonde locale – AFM (microscopie à force atomique) et techniques dérivées - récemment implantée au laboratoire permet quant à elle de quantifier les forces d'adhésion des bactéries aux surfaces : sont-elles affectées par la présence des protéines ? Enfin, les constants progrès de l'imagerie de fluorescence en termes de résolutions spatiale et temporelle donnent accès à une meilleure imagerie et quantification de la bioadhésion aux surfaces.

- étudier (i) d'autres surfaces SAM utilisées en milieu industriel, (ii) un panel plus large de bactéries parmi celles rencontrées dans la contamination des dispositifs industriels, de structures (bactéries pourvues d'appendices extracellulaires, en forme de bâtonnets...) et de propriétés de surface différentes, (iii) des interactions protéine – bactérie spécifiques de type ligand-récepteur qui peuvent naturellement être mises en jeu (comme par exemple les protéines fibronectine, fibrinogène ou laminine du plasma sanguin peuvent interagir spécifiquement avec des bactéries).

Cette recherche pluridisciplinaire (physique moléculaire, optique ultra-rapide, chimie, photobiologie, microbiologie) permettra à l'étudiant(e) d'interagir avec les groupes Femtophysique moléculaire et Biophysique-Biophotonique de l'ISMO et le laboratoire de Bioadhésion Biofilms et Hygiène des Matériaux (UB2HM) de l'INRA-AgroParisTech.

Le stage sera co-encadré par Marie-Pierre Fontaine-Aupart et par Bernard Bourguignon (ISMO).

<sup>1</sup> E. Bulard et al., *Langmuir* **27**, 4928 (2011).

<sup>2</sup> E. Bulard et al. , *Langmuir* **28**, 17001 (2012).

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire :** Institut des Sciences Moléculaires d'Orsay (ISMO)

**Adresse :** Université Paris Sud 11, Bâtiment 350, F-91405 Orsay cedex

**Responsable de stage :** Christian Marlière

**Email :** [christian.marliere@u-psud.fr](mailto:christian.marliere@u-psud.fr)

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** EDOM (Ecole doctorale Ondes et Matière, ED 288)

**Profil recherché :** Physicien intéressé par les problématiques biologiques

**Possibilité de poursuite en thèse :** OUI

**Financement envisagé :** Bourse ED

**Titre du stage :** Etude des phénomènes d'adhésion bactérienne par utilisation combinée des technique AFM (et modes électriques) et TIRF : évolution temporelle de la structure des interfaces bactérie/fluide et bactérie/substrat.

### Résumé :

Les traitements contre les bactéries pathogènes, responsables, par exemple, des maladies nosocomiales, sont basés sur l'utilisation de désinfectants et autres bactéricides comme les antibiotiques. Efficaces sur des cellules planctoniques, ils s'avèrent d'une efficacité souvent très limitée pour éradiquer des bactéries simplement adhérentes ou incluses dans un biofilm. Les différentes souches bactériennes peuvent avoir une grande variabilité et dispersité dans leur structure de surface. De plus, elles peuvent aussi répondre à des variations de leur environnement lors, par exemple, de l'approche puis de l'adhésion sur une surface solide, par un ajustement de leur protéome qui se traduit par une modification dynamique de leurs surfaces membranaires et de ses composants.

Le sujet du stage que nous proposons vise à une meilleure connaissance des processus physico-chimiques associés à l'adhésion bactérienne par une caractérisation soignée de la structure des interfaces (bactérie/substrat/fluide) et de leur évolution temporelle. Nous utiliserons des moyens d'investigation pouvant atteindre l'échelle moléculaire. Parmi ceux-ci, l'AFM (microscopie à force atomique) occupe une place importante. Il est ainsi possible d'imager et cartographier les propriétés physiques (mécaniques et électriques ou électrochimiques) de membranes de microorganismes. La microscopie de fluorescence par réflexion totale interne (TIRF) est une technique appropriée pour sonder les entités adhérentes à la surface d'un substrat (sur une distance de l'ordre de la centaine de nanomètres ou en-deçà). Comme l'imagerie de fluorescence classique, elle fonctionne par excitation sélective de fluorophores, spécifiquement fixés sur des composants ou parties précises des micro-organismes étudiés, qu'ils soient à la surface ou internalisés dans la cellule étudiée.

Pour ce stage, il s'agira :

1. d'implanter la détection TIRF sur le banc expérimental associant AFM et microscopie optique (AFM, microscopie à force atomique, SECM, microscopie électrochimique, etc.)
2. d'étudier les modifications de structure de la membrane bactérienne en contact avec le fluide ou le substrat solide pour mieux appréhender l'influence de la structure de surface membranaire et le rôle de la matrice extra-cellulaire sur les mécanismes d'adhésion bactérienne.

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

**Laboratoire:** UMR de Génétique Végétale

**Adresse :** 91190 Gif-sur-Yvette

**Responsable de stage :** Olivier Martin

**Email :** olivier.martin@moulon.inra.fr

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** Gènes, Génomes, Cellules

**Profil recherché:** théoricien ayant un penchant pour le numérique

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** Ecole doctorale ou bourses interdisciplinaires Idex Paris-Saclay

**Titre du stage :** Chromosomes et crossovers en méiose

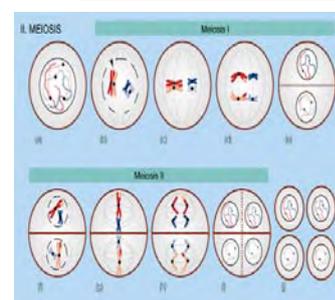
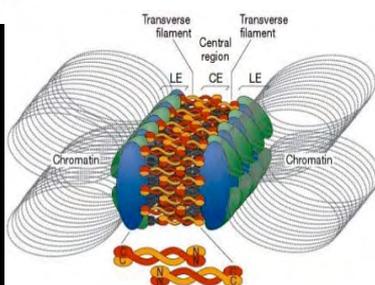
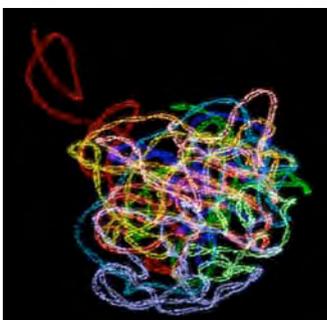
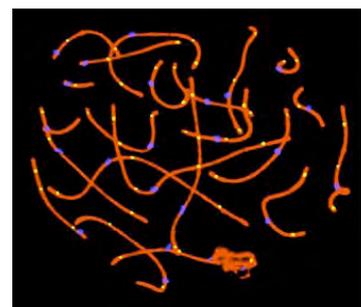
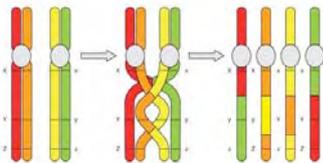
## Résumé :

Lors de la méiose, un programme spatio-temporel est mis en place pour que les chromosomes homologues s'alignent, s'apparient, se synapsent dans une structure appelée « complexe synaptonémal », puis se séparent en division réductionnelle. Lors de ces étapes, des crossovers se forment avec deux conséquences majeures : (1) ils maintiennent une cohésion physique entre les chromosomes homologues, ce qui assure une ségrégation équilibrée en anaphase, et (2) ils entraînent un échange de matériel génétique entre les chromatides concernées, aboutissant à la formation de gamètes *recombinés*, ce qui est important pour l'évolution et pour les programmes d'amélioration des plantes cultivées. Notre équipe modélise ces phénomènes méiotiques et nous analysons des jeux de données associées venant de microscopie optique ou électronique [1] et de génotypage. Un modèle particulier fait intervenir la mécanique du complexe synaptonémal dont la rigidité serait le substrat matériel permettant à un crossover d'éteindre les crossovers dans son voisinage [2], effet appelé « interférence génétique » depuis sa découverte dans le laboratoire de Thomas Morgan au début du 20<sup>ième</sup> siècle. Le/la candidat(e) à ce stage/thèse aura à maîtriser des outils de mathématique, de physique théorique, de mécanique et de calcul numérique ; son intérêt pour la modélisation doit être avéré, tout autant que son goût pour des interactions avec les équipes expérimentales produisant les données à analyser.

[1] L.K. Anderson et al., *Simultaneous mapping of two meiotic crossover classes reveals distinct landscapes and inter-pathway cross-talk in tomato*, Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 201406846 (2014).

[2] N. Kleckner et al., *A mechanical basis for chromosome function*, Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, vol 101 (34), 12592 (2004).

Jeu des correspondances : trouver les images pour (1) structure du complexe synaptonémal ; (2) crossovers entre homologues ; (3) divisions réductionnelle et équationnelles ; (4) chromosomes en pachytène ; (5) « spread » des chromosomes et immunomarquage des crossovers.



# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire: Matière et Systèmes Complexes (UMR7057)

Adresse : 10 rue Alice Domon et Léonie Duquet

Responsable de stage : Claire WILHELM

Email : [claire.wilhelm@univ-paris-diderot.fr](mailto:claire.wilhelm@univ-paris-diderot.fr)

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

Profil recherché: physicien(ne) avec un intérêt pour les problématiques biologiques

Possibilité de poursuite en thèse : non

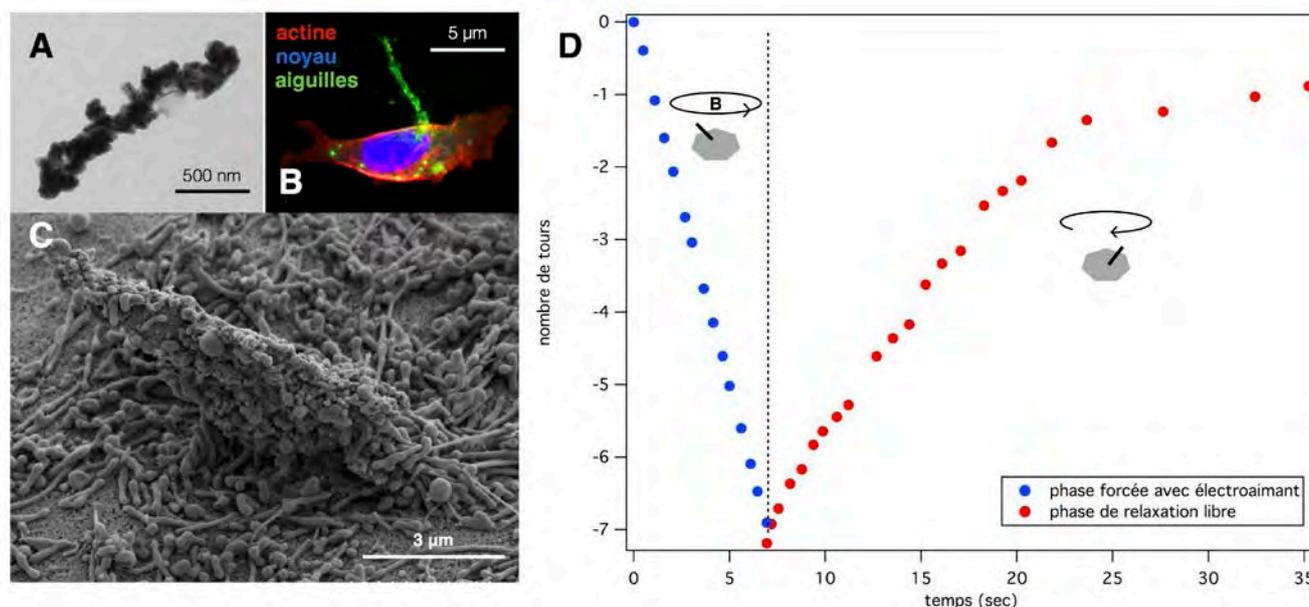
Financement envisagé :

Titre du stage : Un nano-pendule à la surface des cellules

Les nanotechnologies ont récemment fait leur entrée dans le secteur du vivant et semblent devenir des acteurs incontournables pour proposer de nouvelles solutions diagnostiques, élaborer des traitements innovants, favoriser la régénération des tissus, ou encore contrôler des fonctions cellulaires (comme la différenciation de cellules souches ou l'apoptose de cellules tumorales). Cependant, les mécanismes qui gouvernent la réactivité d'une cellule à une stimulation à l'échelle nanométrique sont encore peu compris, voir peu explorés.

Nous avons récemment observé un phénomène intrigant et assez original, en manipulant des nano-aiguilles magnétiques (Fig1A) à la surface des cellules. En présence d'un champ magnétique, ces nano-aiguilles s'auto-organisent pour former des bâtonnets de taille micrométrique qui se retrouvent ancrés par une extrémité dans la membrane plasmique (Fig1B et C). Il est alors possible de forcer ces bâtonnets à effectuer un mouvement de précession à différentes fréquences, grâce à un montage utilisant des électroaimants pour générer un champ magnétique circulaire. Lorsque ce forçage est coupé, le bâtonnet relaxe dans un mouvement de précession inversé à celui de la stimulation (Fig1D).

Le stage vise à caractériser la physique de ce phénomène étonnant (évolution angulaire temporelle, mesure de déphasage entre le stick et le champ magnétique, influence de la fréquence et du nombre de tour de stimulation,...) afin d'essayer de le modéliser (modèle simple de pendule de torsion pour débiter par exemple). Il faudra également comprendre quelle est la structuration au niveau biologique qui est à l'origine de ce phénomène.



**Figure 1** A) Image de microscopie électronique en transmission des aiguilles magnétiques. B) Image de microscopie confocale d'une cellule sur laquelle est ancrée un assemblage de nano-aiguilles magnétiques formant un bâtonnet. C) Image de microscopie électronique à balayage du point d'ancrage du stick dans la membrane cellulaire. D) Evolution temporelle du nombre de tours parcouru par un bâtonnet pendant la phase de forçage avec l'électroaimant et la phase de relaxation.

## Genetically encoded biosensors for the detection of uranium

Laboratoire de Chimie Physique  
Bat 349 Université Paris Sud, 91405 Orsay

Responsable de stage : Fabienne Mérola  
Email : fabienne.merola@u-psud.fr

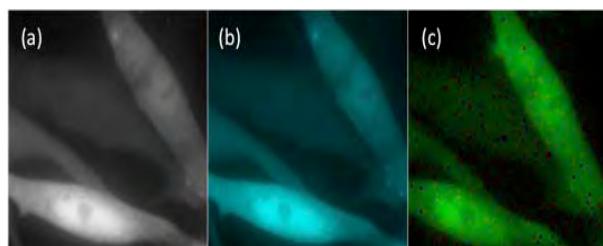
N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED 470 Chimie de Paris Sud

**Profil recherché: Good training in physical chemistry and spectroscopy**  
The internship can be followed by a thesis in our team on the development and applications of newly engineered GFP variants for live cell molecular imaging and biosensing

**Financement envisagé : Stage M2 financé sur contrat, puis allocation doctorale de l'ED 470**

**Résumé :**

Genetically encoded FRET biosensors are built upon a pair of fluorescent proteins homologous to the Green Fluorescent Protein, respectively playing the roles of donor and acceptor in a Förster type resonant energy transfer interaction. These biosensors were initially developed for the detection of metabolites and specific biochemical activities in living cells, tissues and organisms. Besides their numerous applications in cell imaging and biomedical research, their high specificity, sensitivity and biocompatibility makes them very attractive also for low cost, environmentally friendly biotechnological applications.



**Fluorescence imaging of FRET biosensors in BHK cells.**

- (a) Camera image, donor channel
- (b) Camera image, acceptor channel
- (c) TCSPC-FLIM donor image, donor lifetimes

**BI-FLUOR**

The internship project involves a collaboration with a research team of CEA, Cadarache. We have realized a preliminary study of a FRET calcium sensor with the aim to transform it into a uranium sensor. This has led to various modifications, and a new version has been developed, based on more robust GFP variants and carrying better controlled metal binding sites. The work plan consists in the photophysical and biochemical characterization of this new biosensor, and in the development of an optical method for the determination of its metal binding properties.

**Used techniques** (internship program) : analytical and preparative biochemical methods, optical spectroscopy, steady-state and time-fluorescence spectroscopy.

**More informations :**

Merola et al, *Plein Sud Recherche* 2010/2011, p66  
[http://cnanoidf.org/IMG/pdf/faitsmarquants\\_2012-13\\_web.pdf](http://cnanoidf.org/IMG/pdf/faitsmarquants_2012-13_web.pdf) p14  
Merola et al *Biotechnology J* 2014, 9180

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire** : Institut Jacques Monod, UMR7592

**Adresse** : 15, rue Hélène Brion  
75205 PARIS CEDEX 13

**Responsable de stage** : Nicolas Minc

**Email** : [minc@ijm.univ-paris-diderot.fr](mailto:minc@ijm.univ-paris-diderot.fr)

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement** : ED 426, Gènes Génomes Cellules

**Profil recherché** : Biophysique

**Possibilité de poursuite en thèse** : Non

**Financement envisagé** : Oui

**Titre du stage** : Predictive Biology of Embryonic Division Cleavage Geometries

**Résumé** : Cells display a wide range of shapes and sizes, but they all divide at a specific predictable location. One of the most beautiful choreography of cell divisions happens at the very beginning of animals' life, during the process of embryonic cleavages. After fertilization the egg is subsequently subdivided in smaller and smaller cells in a rapid and highly ordered pattern, named cleavage patterns. Different species display different patterns of oriented, symmetric, asymmetric divisions, which are key to define embryonic axes and specify cells. Cleavages have been described in many species, but almost nothing is known on what determines their 3D invariable patterns. Because cell division positioning is an output of micro-mechanical forces applied on Microtubules inside cells that move and rotate the mitotic spindle; understanding the emergence of cleavage patterns requires a multi-scale approach linking the molecular-scale organization of force-generators up to tissue morphogenesis. We here propose to combine 3D imaging, embryo manipulations, and mathematical models to understand the emergence of ordered morphogenesis in this developing tissue. As a model quantitative system, we use the cleavage of Sea Urchin embryos (Minc et al Cell 2011), and we have several collaboration to generalize our approach to other systems.

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire :** Matière et Systèmes Complexes (UMR 7057)

**Adresse :** Bâtiment Condorcet - 10 rue Alice Domont et Léonie Duquet 75205 PARIS Cedex 13

**Responsable de stage :** Fabien Montel, Loïc Auvray

**Email :** [fabien.montel@univ-paris.diderot.fr](mailto:fabien.montel@univ-paris.diderot.fr)

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

**Profil recherché :** physicien ou biologiste

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** non

**Titre du stage :** Transport de biomolécules à travers un pore nucléaire biomimétique

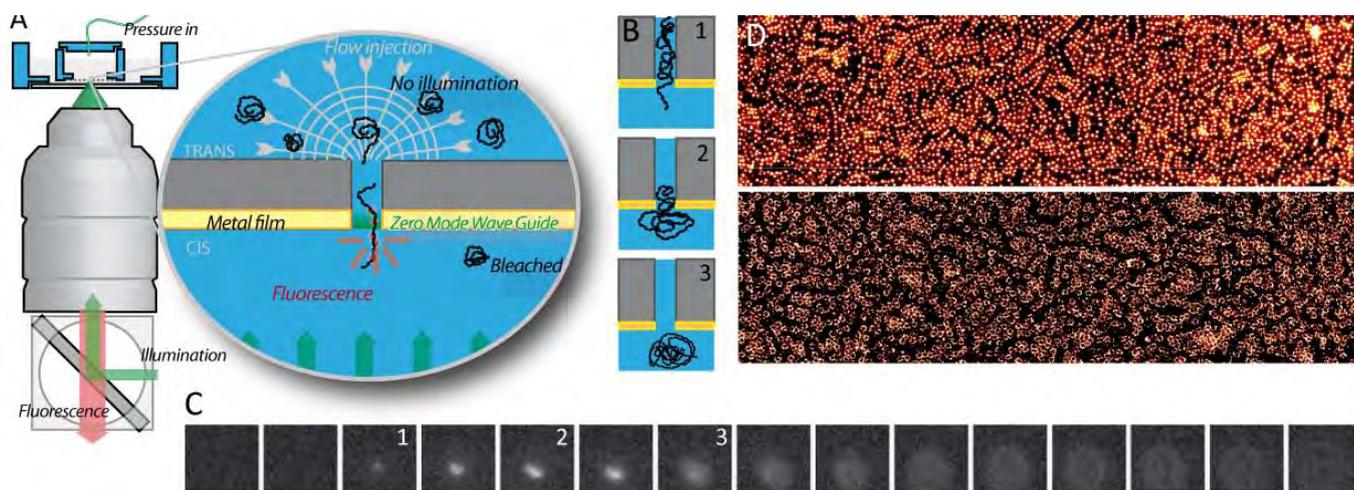
**Résumé :**

Le pore nucléaire est l'unique porte d'entrée et de sortie du noyau de nos cellules et sert de voie de passage sélective et directionnelle aux acides nucléiques et aux protéines échangées entre le noyau et le cytoplasme. Du fait de sa petite taille (100 nm) et de sa grande complexité (plus de 30 protéines), il est difficile d'étudier la dynamique de son fonctionnement par des méthodes directes. Nous proposons de construire un système biomimétique du pore nucléaire et d'utiliser de nouvelles techniques optiques [1] pour suivre le transport de molécules uniques et pour mesurer les forces mises en jeu.

Le stage est pluridisciplinaire et comporte plusieurs volets :

- Biologie : initiation à la biologie du pore nucléaire
- Microfabrication : fonctionnalisation de membranes nanoporeuses mimant le pore nucléaire et /ou extraction de membranes nucléaires de Xenope.
- Optique : manipulation et suivi à haute vitesse et à l'échelle de la molécule unique du transport de molécules d'ARN et d'ADN modèles en utilisant un dispositif expérimental original.

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



A, B et C) La méthode de Zero-Mode waveguide. Elle permet de suivre avec une résolution temporelle de 10 ms le transport de molécules uniques au sein d'un nanopore D) Une membrane nucléaire de Xénope observée en microscopie de super-résolution dSTORM (haut : canal central, bas : anneau luminal)

**Reference :**

[1] Zero-mode waveguide detection of flow-driven DNA translocation through nanopores. Auger T, Mathé J, Viasnoff V, Charron G, Di Meglio JM, Auvray L, Montel F. **Phys Rev Lett.** 2014 Jul 11;113(2):028302.

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

**Laboratoire :** Laboratoire de Physique de l'Ecole Normale Supérieure de Lyon (UMR 5672)

**Adresse :** ENS Lyon, 46 allée d'Italie, 69007 LYON

**Responsable de stage :** Cendrine Moskalenko (MCF, HDR)

**Email :** Cendrine.Moskalenko@ens-lyon.fr

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** ED 52 PHAST : Physique et Astrophysique de Lyon

**Profil recherché:** Physicien(ne) intéressé(e) par l'interface Physique-Biologie ou Physique-Virologie

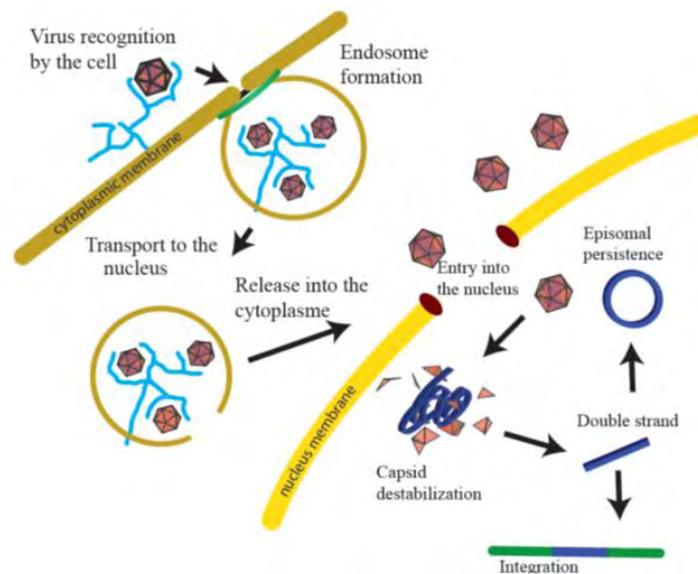
**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** Contrat Doctoral d'Etablissement via l'Ecole Doctorale PHAST

**Titre du stage:** *Physical properties of AAV vectors: an AFM study of capsid stability and disassembly at the single particle level*

## Résumé:

Recent progresses in the characterization of physical properties of viruses allows for the first time to investigate distinct virus cycle events at the single particle level [1]. Using an original combination of experimental approaches based on Atomic Force Microscopy (AFM) and statistical physics modelization, we propose to study the physical properties of Adeno-Associated Virus (AAV) particles in particular to define the parameters leading to capsid disassembly and ejection of the viral genome. AAV is a nonpathogenic parvovirus which is currently used as a gene transfer vector in gene therapy applications [2]. The vectors are composed by a recombinant DNA genome packaged into an icosahedral 20 nm-capsid which can be derived from at least 10 natural AAV serotypes. Interestingly, several studies indicate that the biological properties (virus entry, stability of the capsid, disassembly inside the cell nucleus) can greatly differ according to the AAV serotype used. Therefore, we would like to explore the physical properties of various AAV capsids serotypes to understand their differences in terms of stability, disassembly and release of their viral genome.



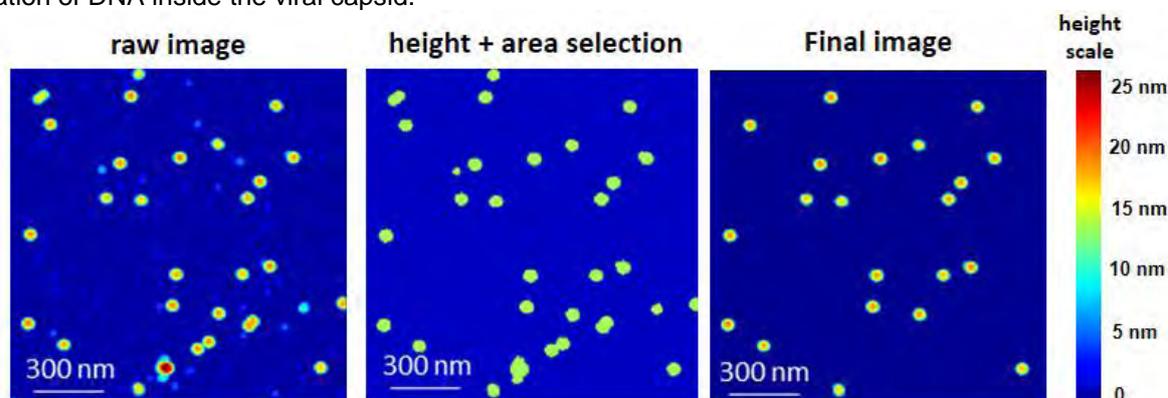
**Figure 1:** AAV viral cycle with main steps: (1) entry, (2) endosome transport to the nucleus, (3) maturation and release close to nuclear pore complexes, (4) entry and (5) disassembly before (6) complementary strand synthesis and viral genome integration.

Our aim is to explore, using a single molecule technique, the physical properties of various AAV capsids serotypes (mainly AAV2, 8, and 9) in order to understand their differences in terms of stability, disassembly and biological functions.

AFM experiments are used to probe at a very high spatial resolution the morphology of viral capsids but also to exert mechanical constraints on viral particles thereby measuring their elastic response (nano-mechanics) [3]. First, we will characterize the morphology and stiffness of several AAV serotypes *in vitro* by AFM imaging of purified AAV capsids deposited on a functionalized mica surface. The obtained images will be analyzed with

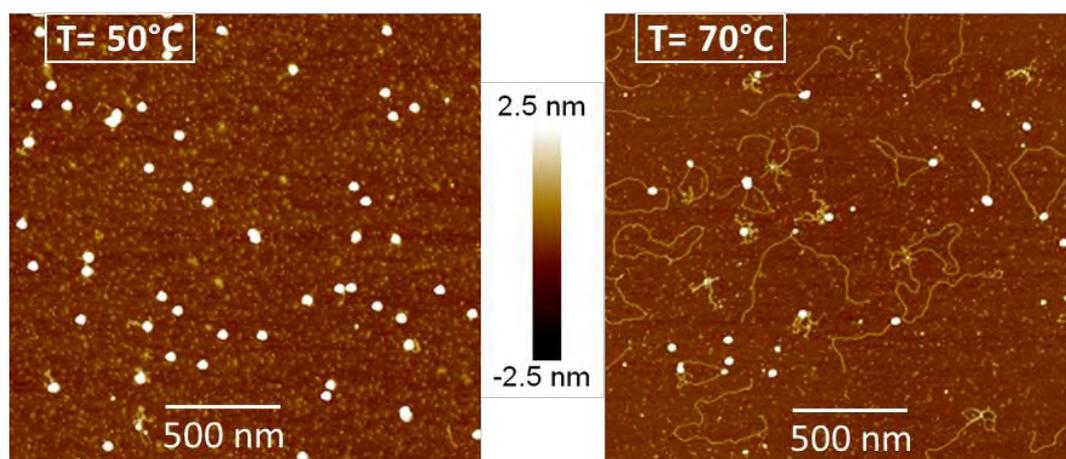
automated image analysis tools developed in our team. Using both AFM imaging and nanomechanics, we will compare several AAV serotypes at thermodynamic equilibrium.

Then, we will vary the micro-environment of AAV capsids (temperature, pH, osmotic pressure,...) in order to study their influence on virus stability. Our preliminary results suggest that above a fixed temperature, single stranded DNA starts to be ejected from the capsid and is visible on AFM images. We will quantify the amount of ejected single stranded DNA as a function of temperature as well as the change in morphology and mechanical properties of capsids. In addition, we will compare this out-of-equilibrium behavior for various AAV serotypes. These data will be useful to develop statistical modeling in order to relate the amount of ejected DNA with the conformation of DNA inside the viral capsid.



**Figure 2:** Example of Automated image analysis using an homemade Matlab script: from left to right we can see the raw AFM image (Tapping Mode in air) of AAV9 capsids deposited on polylysine functionalized mica surface, the binary image resulting from height and area thresholding, and the final image after a few more steps where multimers and edge objects have been removed.

Finally, we will examine the effect of viral genome length and nature on the disassembly process [4]. For this we will compare the behavior of empty capsids with that of capsids containing various lengths of single-stranded genomes or a double-stranded DNA molecule thereby changing the mechanical properties of the confined genome.



**Figure 3:** Example of AFM image of AAV8 capsids incubated for 15 minutes at 50°C or 70°C. Above 60°C, some single stranded DNA ejected from the virus can be observed. Using image analysis tools, we are able to quantify the length of DNA ejected as a function of Temperature and/or time of incubation.

This research project is highly interdisciplinary: AAV particles are extensively studied to determine their biological properties *in cellulo* and *in vivo*. However, up to now, very few studies have been conducted on their physical properties which, we think, are essential to fully understand biological phenomena. The main scientific and technical barrier to overcome is to be able to monitor quantitatively and at high resolution the fate of a single AAV capsid undergoing disassembly under a controlled environment.

This PhD project will be only possible thanks to the interdisciplinary collaboration we have initiated very recently with the team of Anna Salvetti (CIRI, ENS Lyon), a specialist of AAV virus biology and AAV vector development. The PhD work will take place in the *Laboratoire de Physique*, in close collaboration with Martin Castelnovo for the physical modelization, and Anna Salvetti for the biology/virology part of the project. The presence of the two teams on the same site is an important asset for the success of this project that requires continuous back and forth exchanges between physicists and virologists.

[1] Roos W.H., Bruinsma R., Wuite G.J.L.; *Nature Physics* **2010**, 6, 633.

[2] Mingozi F. and High K.A. *Nat. Rev. Genet.* **2011**, 12, 341.

[3] Castellanos M, Pérez R, Carrasco C, Hernando-Pérez M, Gómez-Herrero J, de Pablo PJ, Mateu MG; *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* **2012**, 109, 12028.

[4] Nurmehmedov E. ; Castelnovo M. ; Catalano C.E. ; Evilevitch A.; *Quarterly Reviews of Biophysics* **2007**, 40, 327.

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire :** Laboratoire de Biochimie ESPCI

**Adresse :** 10 rue Vauquelin, 75005 Paris

**Responsable de stage :** Philippe Nghe

**Email :** [philippe.nghe@espci.fr](mailto:philippe.nghe@espci.fr)

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** ED 388

**Profil recherché :** physico-chimie, biologie moléculaire, biologie des systèmes

**Possibilité de poursuite en thèse :** envisageable

**Financement envisagé :** Institut Pierre-Gilles de Gennes

**Titre du stage:** Microfluidic droplets cellular assays for high-throughput drug combinations screening

### Résumé :

Drug combinations are a potentially powerful approach to develop new therapeutic strategies. However a major limitation is the combinatorial explosion of the number of conditions. Here, we propose to develop a tool based on droplet microfluidics to screen millions of different drug combinations. The project is challenging and highly interdisciplinary, ranging from microfluidic engineering to molecular biology and bio-informatics. The overall strategy is to couple plate sampling devices with microfluidic devices, while in parallel developing a strategy of DNA bar-codes for the drugs and read-outs based on cell fluorescence or RNA sequencing. This tool will open many possibilities, such as systems biology approach of disease networks, and more concretely antibiotics screening or brain inflammation therapies in the perinatal context (in collaboration with a children hospital in Paris).

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire :** UMR8221 et Futur I2BC (institut de Biologie intégrative de la cellule), Département B3S

**Adresse :** CEA-Saclay, 91191 Gif sur Yvette

**Responsable de stage :** M. Paternostre

**Email :** [maite.paternostre@cea.fr](mailto:maite.paternostre@cea.fr)

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** ED 425

**Profil recherché :** Biophysique-physicochimie

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** université

**Titre du stage :** Architectures nanométriques formées par des peptides : étude des déterminants moléculaires et physicochimiques guidant les processus

### **Résumé :**

Le monde du vivant présente de nombreux exemples d'assemblages jouant un rôle important dans des fonctions cellulaires aussi primordiales que le transport actif, la division cellulaire, le déplacement des organismes unicellulaires...etc. Dans le domaine des nanotechnologies, les scientifiques sont attirés par les stratégies sélectionnées par la Nature pour former de nouvelles nanoarchitectures. Ces édifices sont maintenus par des interactions non-covalentes et c'est la sommation de ces multiples interactions qui leur confère leur stabilité mais aussi leur flexibilité. Il a récemment été montré que nombreuses hormones peptidiques étaient stockées à forte concentration dans des vésicules de sécrétion avant d'être libérées lors d'un stimulus spécifique. Dans ces vésicules, les hormones sont stockées sous forme d'amyloïdes réversibles. Le sujet porte sur l'étude de la gonadoréline et d'analogues formant spontanément des structures auto-assemblées et nano-structurées. Il s'agira de comprendre les déterminants moléculaire et physicochimique guidant ces assemblages. L'étudiant travaillera au sein d'un réseau de physiciens, chimistes, biochimistes et biophysiciens.

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire : Laboratoire de Physique des Solides**

**Adresse : Université Paris-Sud Orsay**

**Responsable(s) de Stage : Eric Raspaud**

**Email : eric.raspaud@u-psud.fr**

**N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées :  
Ecole doctorale de Physique de la région parisienne (ED107)**

**Profil recherché: expérimentateur motivé.**

**Possibilité de poursuite en thèse : à discuter**

**Financement envisagé :**

**Titre du stage : Propriétés physiques des biofilms**

**Résumé :**

Les biofilms sont des niches construites par les bactéries pour vivre, survivre et à partir de laquelle les cellules vont pouvoir coloniser d'autres espaces. L'analyse de stromalites indique qu'ils seraient l'une des premières colonies d'organismes vivants datant de plus d'un milliard d'années. De nos jours, ils sont présents dans tous les écosystèmes avec des impacts aussi bien positifs (dans l'environnement: dépollution des sols, traitement des eaux, et pour la santé : biofilms intestinaux, dentaires, ...) que négatifs (corrosion, infections nosocomiales, problèmes d'hygiène agroalimentaire,...).

Il paraît donc important de comprendre la capacité des bactéries en biofilms à s'adapter aux différents écosystèmes. Il existe à l'heure actuelle peu de données physiques sur ces systèmes. Nous souhaitons par exemple étudier leurs propriétés mécaniques en relation avec leurs déformations et mettre en évidence ainsi leur déformabilité. Une étude de leurs propriétés électriques est également en cours.

L'étudiant(e) effectuera des mesures de force (ou de conduction) et développera si besoin une instrumentation appropriée afin de déterminer les propriétés mécaniques (électriques) de biofilms formés par *Bacillus subtilis*. Les mesures de force seront couplées aux mesures de la déformation structurale du système. De manière plus générale, ce stage implique de l'instrumentation, de la microbiologie, des notions de mécanique des milieux continus et du traitement d'image.

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire Jean Perrin

Adresse : Université P. & M. Curie, 4 Place Jussieu 75005 PARIS

Responsable de stage : Lydia Robert & Jérôme Robert

Email : robert.lydia@gmail.com

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED PIF 564

Profil recherché : Biophysique

Possibilité de poursuite en thèse : Oui

Financement envisagé : Contrat doctoral ED PIF

Titre du stage : **Coordination de la croissance et de la division chez la bactérie**

## Résumé :

La plupart des bactéries se reproduisent par fission binaire : la cellule croît et se divise en deux cellules de taille identique. Ce cycle de vie très simple repose sur des mécanismes de contrôle complexes permettant de coordonner croissance, division et réplication du chromosome. La coordination entre croissance et division permet à la bactérie de contrôler sa taille, avec une probabilité instantanée de division qui augmente avec la taille de la cellule. La bactérie doit donc disposer de mécanismes moléculaires permettant une estimation de sa taille et un transfert de cette information à la machinerie de division. Le cycle cellulaire des bactéries est étudié depuis plus d'un demi-siècle et pourtant ces mécanismes moléculaires restent inconnus (1). Notre projet vise à les identifier à partir de l'étude de souches mutantes d' *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis*, grâce à des expériences de vidéo-microscopie permettant de suivre la croissance et la division d'un grand nombre de cellules.

La division cellulaire est assurée par la polymérisation de la protéine FtsZ qui crée un anneau contracteur de la paroi cellulaire lors de la division (appelé Z ring). Chez *E. coli* et *B. subtilis*, deux mécanismes moléculaires contrôlant la polymérisation de FtsZ ont été identifiés : le système Min, qui inhibe la formation du Z ring aux pôles de la cellule, et l'effet de Nucleoid Occlusion (NO), qui inhibe sa formation près du chromosome (2,3). Ces deux systèmes participent à la localisation du Z ring mais leur rôle dans le déroulement temporel de la division reste flou et le signal qui déclenche la division n'a pas encore été identifié (1).

Au cours de ce stage nous chercherons à comprendre et quantifier le rôle des deux systèmes Min et NO dans le contrôle spatial et temporel de la division, en utilisant des mutants dans lesquels l'un des deux systèmes est supprimé. On caractérisera la croissance et la division des mutants de façon quantitative, en particulier on estimera la distribution de taille à la division et de temps de génération ainsi que leurs corrélations au sein de lignages cellulaires. Ces résultats pourront être comparés aux prédictions de différents modèles statistiques (4,5) et de nouveaux modèles pourront être développés (dans un cadre déterministe avec des EDP ou dans un cadre probabiliste à partir de processus auto-régressifs).

Le stage comprendra donc une phase expérimentale de vidéo-microscopie ainsi qu'une phase plus théorique d'analyse de données/modélisation.



Microcolonie d'*E. coli* observée par microscopie

1. Wang DJ and Levin PA (2009) Metabolism, cell growth and the bacterial cell cycle. *Nature Reviews Microbiology* 7(11):822-827
2. Wu LJ, Errington J (2011) Nucleoid occlusion and bacterial cell division. *Nature Reviews Microbiology* 10:8-12.
3. Lutkenhaus J (2007) Assembly dynamics of the bacterial minCDE system and spatial regulation of the Z ring. *Annual Review of Biochemistry* 76:539-62.
4. Amir A (2014) Cell Size Regulation in Bacteria, *Phys.Rev.Lett.* 112, 208102
5. Robert L, Hoffmann M, Krell N, Aymerich S, Robert J, Doumic M (2014) Division in *Escherichia coli* is triggered by a size-sensing rather than a timing mechanism. *BMC Biology* 12,17.

# PROPOSITION DE STAGE ET DE THESE

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

**Responsables de Stage :** Guillaume Romet-Lemonne et Antoine Jégou

**Laboratoire :** Institut Jacques Monod  
Bâtiment Buffon, 15 rue Hélène Brion, 75013 Paris

**E-mails :** [romet@ijm.univ-paris-diderot.fr](mailto:romet@ijm.univ-paris-diderot.fr) / [jegou@ijm.univ-paris-diderot.fr](mailto:jegou@ijm.univ-paris-diderot.fr)

**Téléphone :** 01.57.27.80.13

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

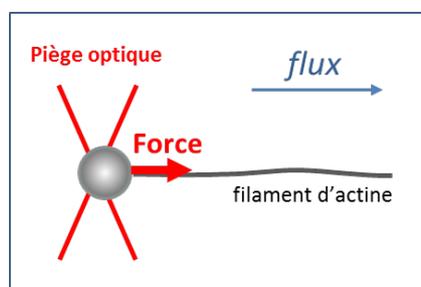
**Profil recherché:** Physicien-ne, chimiste ou biologiste, ouvert-e aux autres disciplines.

**Possibilité de poursuite en thèse :** Oui      **Financements envisagés :** Ecoles Doctorales, Labex, ANR, HFSP.

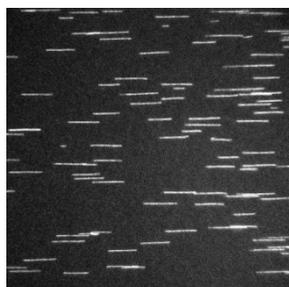
### Résumé :

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.

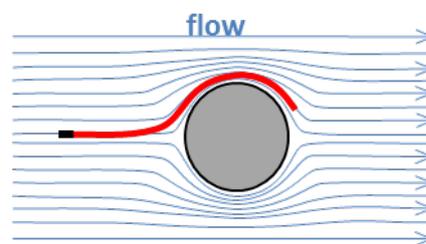
Depuis quelques années, des outils issus des sciences physiques permettent d'observer directement ces mécanismes, à l'échelle de la molécule unique. Cela donne un éclairage nouveau sur les interactions entre protéines, et permet d'étudier plus en détail le rôle que joue leur environnement mécanique.



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 **pincettes 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 dans une équipe de biophysiciens/biochimistes, au sein de l'Institut Jacques Monod. Cet institut offre un excellent environnement pluridisciplinaire où d'autres équipes s'intéressent aux mêmes questions dans un contexte cellulaire, ainsi que des infrastructures techniques de pointe.

Page web de l'équipe : <http://www.actindynamics.net> - Site web de l'institut : <http://www.ijm.fr>

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire Physique des Surfaces Vivantes

<http://cms2.unige.ch/sciences/biochimie/-Aurelien-Roux-Lab-.html>

Adresse : Département de Biochimie, Université de Genève

Responsable de stage : Aurélien Roux, Professeur

Email : aurelien.roux@unige.ch

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : International PhD program in Life Sciences

(<http://lifesciencesphd.unige.ch/>)

Profil recherché : Biologiste ou Physicien voulant travailler à l'interface en physique et biologie

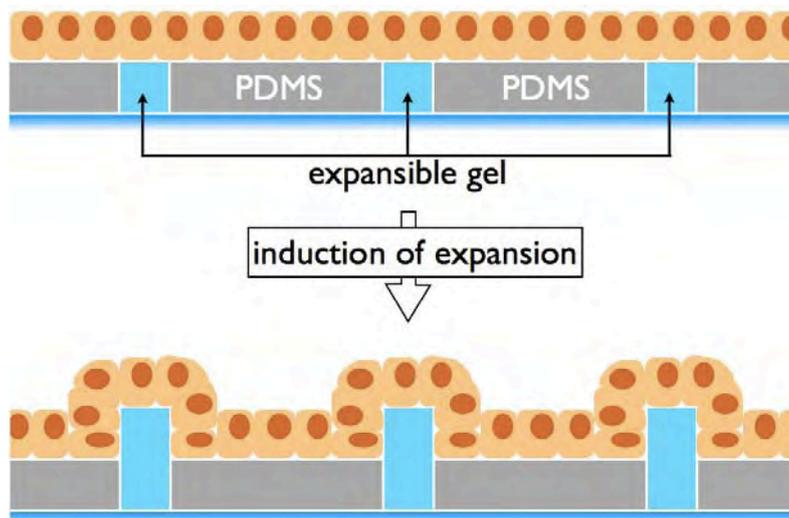
Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : jusqu'à 5 ans de thèse financés sur fonds propres (ERC, Fonds National Suisse, Fonds du département). Thèse en 3 ou 4 ans tout à fait possible. Salaire brut annuel : 46 000 CHF (36 000 euros)

Titre du stage : Mechanics of Epithelium under external stress

Résumé : In development, most of the organs are formed from the deformation of cell layers called epithelia. Whereas the biochemical pathways and genetics ruling these mechanisms have been under intense study, very little is known about how mechanics of a growing epithelium under constraints participate in shaping the organs.

GOAL: By use of micro-patterning techniques and expansible gels, we want to grow epithelia on flat substrates that can be deformed upon induction of gel expansion (see figure below), and study how mechanical properties, cell shape and epithelial organization adapt to the new shape.



## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire Physique des Surfaces Vivantes

<http://cms2.unige.ch/sciences/biochimie/-Aurelien-Roux-Lab-.html>

Adresse : Département de Biochimie, Université de Genève

Responsable de stage : Aurélien Roux, Professeur

Email : aurelien.roux@unige.ch

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : International PhD program in Life Sciences

(<http://lifesciencesphd.unige.ch/>)

Profil recherché : Biologiste ou Physicien voulant travailler à l'interface en physique et biologie

Possibilité de poursuite en thèse : oui

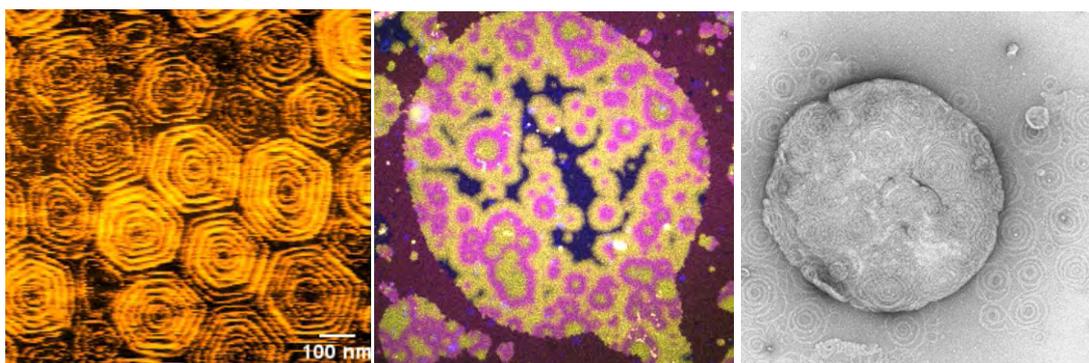
Financement envisagé : jusqu'à 5 ans de thèse financés sur fonds propres (ERC, Fonds National Suisse, Fonds du département). Thèse en 3 ou 4 ans tout à fait possible. Salaire brut annuel : 46 000 CHF (36 000 euros)

Titre du stage : Mechanics of ESCRT Spiral Springs

Résumé : ESCRT-III (Endosomal Sorting Complex Required for Transport) is a complex of 5 proteins (Yeast Vps20, Snf7, Vps2, Vps4 and Vps4) that has been implicated in Multi-Vesicular Bodies (MVBs) budding. In particular it is thought to be necessary for budding and fission (membrane neck breakage) of intraluminal vesicles from the membrane of the MVBs. It is also required for release of HIV virions and for finalization of abscission (membrane breakage) during cytokinesis. We recently showed that the ESCRT-III complex forms spiral spring-like structures at the surface of membrane and can accumulate lateral compression that can be released by membrane budding (Chiarruttini et al, in preparation).

Our goal is now to understand how ESCRT-III mediates membrane fission, following our strategy of in vitro reconstitution assays and biophysics tools.

The project will use tools and protocols established by Nicolas Chiarruttini, a post-doc in the lab, but to focus on the role of lipids and proteins in the fission reaction. So far, we have not been able to obtain a satisfying fission assay with ESCRT-III, and the main goal of the project will be to develop an assay for live imaging of ESCRT-III mediated membrane fission. An overlap with Nicolas for transfer of knowledge and technology would be a preferred situation.



## « PROPOSITION DE STAGE »

**Laboratoire : Laboratoire des Biomolécules (LBM –UMR 7203)**

**Adresse : Campus Jussieu, Tour 23 (aile 23-33), 4<sup>e</sup> et 5<sup>e</sup> étages**

**Responsable de stage : Sandrine Sagan**

**Email : sandrine.sagan@upmc.fr**

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED 406, Chimie Moléculaire**

**Profil recherché : physico-chimie**

**Possibilité de poursuite en thèse : non**

**Financement envisagé : sans objet**

**Titre du stage : *Dual-targeting HIV entry inhibitors using cationic liposomes***

**Résumé :** The Human Immunodeficiency Virus (HIV) is the causative retrovirus of the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Although the available antiretroviral treatments have been successful in reducing both the mortality and the morbidity of HIV infection, no effective treatment or vaccine has yet been achieved. HIV-1 entry inhibitors are a class of antiviral agents that exhibits promising inhibition profiles. These inhibitors act extracellularly, at different steps of the entry process, preventing target cell infection. Despite the potential of these therapeutic molecules, their clinical application is considerably limited by ineffective delivery to the site of action. Liposomal carrier systems, namely cationic liposomes, are known to be biocompatible and efficient drug delivery systems that can be used to overcome this problem.

In the last years liposomes have been described as potential carriers for anti-HIV drugs [1]. The HIV-1 envelope membrane and host cells lipid rafts are enriched in rigid zwitterionic phospholipids (including saturated lipids, such as sphingomyelin (SM)), some anionic phospholipids and a high percentage of cholesterol [2]. Cationic lipids may be utilized as carriers for entry inhibitors, such as small membrane-rigidifying compound (SMRC), sifuvirtide, and F63, towards cell membranes and viral envelopes. For sifuvirtide and F63, these formulations have potential stability and efficacy benefits. This is expected due to the global anionic net charge of sifuvirtide, F63 and the target membranes. Cationic vesicles are the common type of vesicles used as carriers for anionic molecules, such as nucleic acids. For instance, they are used as condensation agents to enhance delivery of DNA plasmids in gene therapy [3]. In a broader perspective, liposomes have demonstrated to be effective carriers for a broad range of bioactive molecules. For instance, Duzgunes et al. demonstrated the viability of liposome mediated delivery of intracellular-acting antiviral agents to HIV-infected cells [4]. When a liposome is presented to a cell, the delivery of the cargo molecules can be performed either by fusion of the vesicle with cell membranes or by endocytosis [3]. Depending on the vesicle properties, such as global net charge or lipid and sterol compositions, one of the delivery pathways will be preferred [3]. Regardless of the pathway used for liposomal drug delivery, it is clear that if one manages to use liposomes in order to concentrate entry inhibitors on the surface of any membrane involved in HIV entry, such as viral envelopes and cell membrane lipid rafts, a major enhancement in antiretroviral activity may be achieved.

The project (supported by a European HIV-ERA grant) will be to ascertain the thermodynamics of the interactions, as well as to evaluate the insertion of SMRC into the liposomes and the association of sifuvirtide and F63 with the pre-load SMRC liposomes.

2. Techniques ou méthodes utilisées / *Specific techniques or methods*

lipid vesicle preparation ; Isothermal calorimetry (ITC) ; Differential Scanning Calorimetry (DSC) ; peptide chemistry

3. Références / *References*

- [1] Chopra S, Venkatesan N, Betageri GV (2013) Liposomes as nanocarriers for anti-HIV therapy. *Drug Deliv Transl Res*, doi10.1007/s13346-013-0134-2.
- [2] Brugger B, Glass B, Haberkant P, Leibrecht I, Wieland FT, Krausslich HG. (2006) The HIV lipidome: a raft with an unusual composition. *Proc Natl Acad Sci USA*,103:2641-2646.
- [3] Karmali PP, Chaudhuri A (2007) Cationic liposomes as non-viral carriers of gene medicines: resolved issues, open questions, and future promises. *Med Res Rev*,27:696-722
- [4] Duzgunes N, Simoes S, Konopka K, Rossi JJ, Pedroso de Lima MC (2001) Delivery of novel macromolecular drugs against HIV-1. *Expert Opin Biol Ther*,1:949-970.

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire:** Institut Jacques Monod

**Adresse :** 15 rue Hélène Brion, 75205 Paris cedex 13

**Responsable de stage :** Nicolas Borghi

**Email :** [borghi@ijm.univ-paris-diderot.fr](mailto:borghi@ijm.univ-paris-diderot.fr)

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

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

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** allocation d'ED, allocations de fondations caritatives

**Titre du stage :** Single-molecule force spectroscopy in live cells

**Résumé :**

Cells generate and experience mechanical forces that are propagated throughout the organism. Ultimately, these forces may shape tissues and organs, and regulate genetic programs. The molecular mechanisms of these processes are, however, poorly understood.

To address this issue, we have developed Molecular Tension Microscopy (Borghi et al. PNAS 109:12568-73), a novel methodology that allows for the first time to quantify mechanical tensions in proteins in live cells, with molecular specificity. Thus, it offers the possibility to decipher how mechanical tensions are transmitted through cells and organisms, and transduced into signals that affect cell fate and behavior, and ultimately tissue and organism function. The current state-of-the-art of this approach is limited to ensemble measurements, i.e. it provides a cell or tissue image of molecular tension where the tension of the protein of interest is averaged over the population contained within each pixel and the acquisition time. We propose to expand this approach to single-molecule resolution. This progress will enable to quantify tension distribution across a protein population and measure protein bonds lifetimes and rupture forces *in situ*, features that no other technique is able to provide to date. To do so, we will perform Molecular Tension Microscopy by FRET imaging of biosensors upgraded for TIRF/super-resolution microscopy in live cells, on adhesion proteins.

The project generally targets the understanding of the mechanical properties and behavior of living matter and their impact on biological functions. It combines molecular bioengineering, cell culture, quantitative fluorescence microscopy, single-molecule biophysics, image analysis and it aims at connecting molecular to cell scales. The project will involve strong interactions with team members with backgrounds spanning from soft matter physics to molecular and cell biology, and microscopy/spectroscopy engineering, and will benefit from the expertise and newest equipment of ImagoSeine, the IJM Imaging Facility.

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire:** Institute of Biochemistry and Genetics of the Cell (IBGC. Poulon Fanny  
<fanny.poulon@institutoptique.fr>

**Adresse :** 1 rue Camille Saint-Saëns - CS61390 - 33077 Bordeaux Cedex

**Responsable de stage :** Anne Devin

**Email :** anne.devin@ibgc.u-bordeaux2.fr

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** Ecole Doctorale Sciences de la Vie et de la Santé.  
Université de Bordeaux

**Profil recherché :** Biophysicist with interdisciplinary background.

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** bourse MRET (concours des ED)

Poulon Fanny <fanny.poulon@institutoptique.fr> This internship proposes a transdisciplinary study that will focus on the relationships between metabolic and mechanical functions of an adherent cell. Two teams will be involved in this project, the team of A. Devin from IBGC Bordeaux and the team of F. Argoul from ENS Lyon. The experimental expertises of these two teams will be combined to develop an original approach of cell energetics. Cell mechanics plays a fundamental role in its ability to grow and invade tissues, to adhere or to form tight junctions in epithelia. This mechanical function mainly relies on the efficiency of a cell to feed its motor proteins (such as actin) with ATP. ATP is the major source of energy in living organisms and any dysfunction in the regulation of its synthesis has drastic consequences. The two ATP synthesis pathways, namely glycolysis and oxidative phosphorylation, are operating in parallel (respectively in the cytoplasm and in the inner mitochondrial membrane) to adjust ATP synthesis to the cell's ATP demand. In healthy cells, the second pathway occurs predominantly, whereas in cancer cells the first one (glycolysis) is strongly favored. Moreover, both cell energetics and cell mechanics are tightly intertwined both spatially and temporally. Indeed, mitochondrial and glycolysis metabolons are in direct physical interaction with the cytoskeleton (actin filaments or microtubules). How these interactions are regulated by both cell mechanics and cell energetics is one of the fundamental issues of this project.

The question of how the cell manages to regulate its ATP synthesis in regions where a fast mechanical response is required will be addressed during this internship. Two tasks will be undertaken. On the one side single cell compression experiments will be performed on living fibroblasts concomitantly to a real time capture of the reorganization of the mitochondrial network by confocal microscopy. The impact of compression on the dynamics of fusion-fission processes will be studied by fluorescent staining of both the mitofusins (Mfn1, Mfn2), and the mitochondrial membrane. On the other side, a multi-scale image analysis will be performed from the recorded images to characterize the modifications of spatial organization of this metabolic network. Staining of actin and microtubules will also be achieved, to look for colocalization of fusion-fission events with the cytoskeleton filaments. In these experimental conditions, cell energetics will be modulated thanks to readily available inhibitors of both glycolysis and oxidative phosphorylation.

Poulon Fanny <fanny.poulon@institutoptique.fr> [1] The Warburg and Crabtree effects: On the origin of cancer cell energy metabolism and of yeast glucose repression. Diaz-Ruiz R, Rigoulet M, Devin A. Biochim Biophys Acta. 2011 1807(6):568-76.

[2] Poulon Fanny <fanny.poulon@institutoptique.fr> The Plant Journal : for Cell and Molecular Biology, 67 : (2011) 1116–1123.

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire :** Laboratoire de Chimie des Polymères Organiques (UMR5629 CNRS / Université de Bordeaux)

**Adresse :** LCPO – Ecole Nationale, de Chimie, de Biologie et de Physique de Bordeaux (ENSCBP)  
16 avenue Pey Berland – 33607 Pessac cedex  
<http://lcpo.fr/index.php/research-topics/3-polymer-self-assembly-and-life-sciences>

**Responsable de stage :** Olivier Sandre et Jean-François Le Meins

**Email :** [olivier.sandre@enscbp.fr](mailto:olivier.sandre@enscbp.fr), [lemeins@enscbp.fr](mailto:lemeins@enscbp.fr)

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** ED040 Sciences Chimiques (spécialité physicochimie)

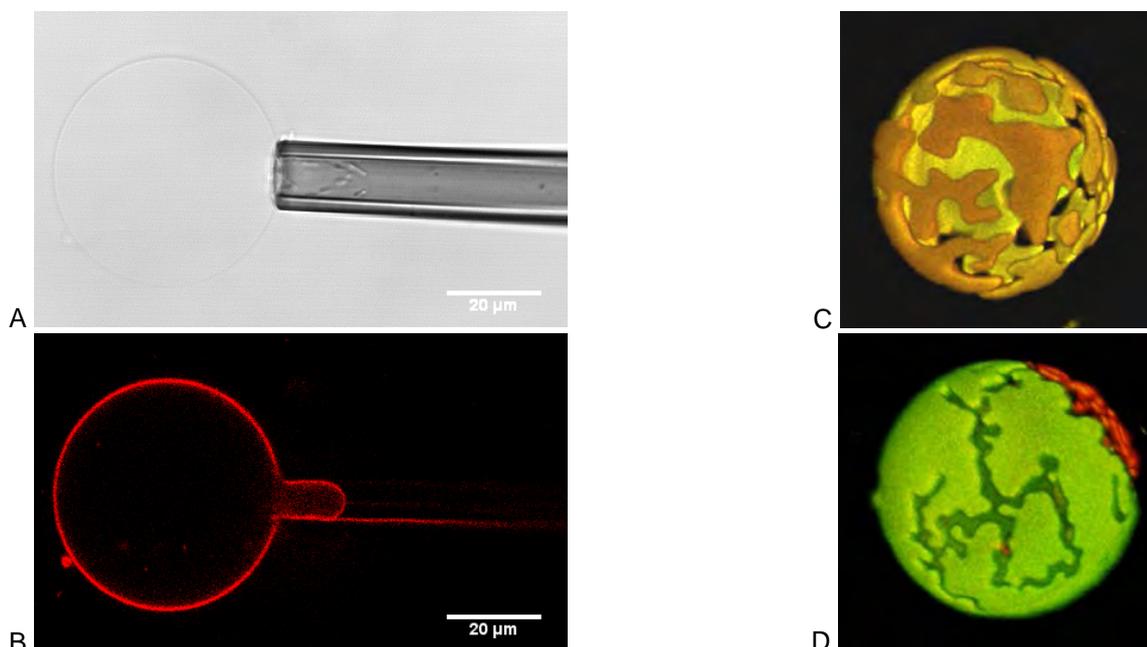
**Profil recherché :** Physicochimiste

**Possibilité de poursuite en thèse :** éventuellement

**Financement envisagé :** ANR

**Titre du stage :** Micromanipulation de vésicules géantes hybrides (polymères-phospholipides)

**Résumé :** Dans ce stage, on propose de développer des vésicules (géantes) hybrides à partir de phospholipides et de copolymères à blocs, qui présenteront des propriétés intermédiaires entre celles des liposomes (vésicules de lipides) et de polymersomes (vésicules constituées de copolymères à blocs). Ces deux structures ont chacune des avantages (biocompatibilité, biodégradabilité, caractère biomimétique pour les liposomes, robustesse et versatilité de fonctionnalisation chimique pour les polymersomes) et des désavantages (fragilité des liposomes, très faible perméabilité des polymersomes...). Le travail consistera à formuler ces vésicules hybrides par électro-formation ou par gonflement de gel, et à en étudier les caractéristiques, notamment leur rigidité de courbure, au moyen de la technique d'aspiration en micropipette. D'autres expériences comme des mesures de diffusivité de sondes (FRAP), de perméabilité ou de libération de molécules seront aussi entreprises. Ce stage s'intègre naturellement dans une collaboration entre le LCPO et l'Institut Charles Sadron à Strasbourg (projet ANR Kinetics of Bilayer Translocation).



**Légende :** Expérience d'aspiration d'une vésicule géante dans une micropipette visualisée en microscopie fond clair (A) et en fluorescence (B). Vésicules géantes hybrides présentant des domaines (C, D) mis en évidence par marquage des phases respectivement riche en polymère et riche en phospholipide avec des sondes fluorescentes.

**Bibliographie :** Le Meins et al, *Materials Today*, 2013, 16, 397-402 ; Chemin et al, *Soft Matter*, 2012, 8, 2867-2874 ; Le Meins et al, *European Physical Journal E*, 2011, 34, 14(1-17) ; Salva et al, *ACS Nano* 2013, 7, 9298-9311.

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire :** Schneider

**Adresse :** IGBMC, 1 Rue Laurent Fries, Illkirch

**Responsable(s) de Stage :** Robert Schneider

**Téléphone :** +33 (0) 3 88  
65 35 80

**Email :** schneidr@igbmc.fr

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

École Doctorale Des Sciences de la Vie et de la Santé (UdS).

**Titre du stage :**

**Analysing epigenetic memory in single cells**

**Analyse de la mémoire épigénétique dans des cellules individuelles.**

**Résumé :**

The research in our group at the IGBMC in Strasbourg focuses on understanding the **establishment of specific transcriptional states and their epigenetic inheritance in single cells**. Our research includes physical, biochemical and biophysical approaches such as different microfluidics platforms. For details about our general research visit our webpage: <http://www.igbmc.fr/research/department/2/team/105/>

## **Background**

Chromatin states and epigenetic modulators are key regulators of DNA dependent processes and can thereby regulate the expression of all genes. Mechanistically how transcriptional and “epigenetic” states are inherited through cellular divisions is currently only poorly understood. This inheritance of epigenetic states offers an important memory mechanism, for example, in response to environmental signals. However to define the heritability of epigenetic states within a population of cells is difficult due to cell heterogeneity in the level and stability of the underlying mechanisms. Therefore novel single cell approaches to observe these processes in live cells, combined with high throughput screening to identify factors that are involved are required to understand how chromatin states and epigenetic modulators mediate “epigenetic” memory.

## **Project**

We have implemented a state-of-the-art microfluidics approach to address dynamics of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) transcriptional memory and in particular “epigenetic” inheritance at the level of individual yeast cells across multiple generations. We now want to apply a high throughput microfluidic approaches in combination with genome wide (SGA) screening to identify factors that are implicated in the memory of transcriptional and/or chromatin signatures and predict their effect on gene expression kinetics.

## **Methods used:**

This project will involve the development of innovative technologies to combine novel **microfluidic approaches** with **high-throughput imaging** (e.g. different microfluidics platforms and live cell imaging), data analysis (e.g. single cell tracking, **pedigree analysis**, and **data modelling**) as well as some yeast genetics (e.g. construction of yeast strains). This is a challenging project at the interphase of physics and biology in an internationally renowned environment and will benefit from a setup with excellent core facilities and in-house microfluidics setup

For further questions please contact : Robert Schneider : schneidr@igbmc.fr

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire : Physicochimie Curie**

**Adresse : 11 rue Pierre et Maris Curie, Paris 5<sup>em</sup>**

**Responsable de stage : Pierre Sens**

**Email : pierre.sens@espci.fr**

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

**Profil recherché : Physicien (stage théorique)**

**Possibilité de poursuite en thèse : Oui**

**Financement envisagé : Aucun financement de thèse pour l'instant (financement HFSP pour le stage)**

**Titre du stage : Formation et maintenance des voiles cellulaires**

**Résumé :** Les cellules dendritiques immatures (veiled cells) présentent des extensions membranaires plates ressemblant à des voiles ([http://en.wikipedia.org/wiki/File:Dendritic\\_cell\\_revealed.jpg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Dendritic_cell_revealed.jpg)). Ces extensions paraissent morphologiquement similaires aux lamellipodes des cellules rampantes, et semblent également être générées par la polymérisation de filaments du cytosquelette, mais contrairement au lamellipode, leur croissance ne nécessite pas d'interaction avec un substrat quelconque. Le but de ce stage sera d'analyser d'un point de vu théorique les mécanismes mis en jeu lors de la croissance et la maintenance de ces structures, en écrivant un modèle physique tenant compte des propriétés mécaniques du cytosquelette et de la membrane cellulaire, ainsi que des propriétés dynamiques de polymérisation/dépolymérisation des filaments et du transport (actif et/ou passif) des différents composants.

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire : Physicochimie Curie**

**Adresse : 11 rue Pierre et Maris Curie, Paris 5<sup>em</sup>**

**Responsable de stage : Pierre Sens**

**Email : pierre.sens@espci.fr**

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

**Profil recherché : Physicien (stage théorique)**

**Possibilité de poursuite en thèse : Oui**

**Financement envisagé : Aucun financement de thèse pour l'instant (financement HFSP pour le stage)**

**Titre du stage : Cinétique de croissance d'un manteau de protéines membranaires**

**Résumé :** Les échanges entre une cellule biologique et son environnement, ainsi que les processus de transport intracellulaires, nécessitent généralement la formation de vésicules de membrane. Ceci implique une déformation importante des membranes cellulaires, qui est souvent permise par la formation d'un manteau de protéines capable de courber cette membrane. Le but de ce stage est d'étudier la croissance de ces manteaux protéiques du point de vue de la physique théorique. Nous nous intéresserons en particulier à la cinétique de croissance, en prenant compte les interactions à longue portée qui peuvent exister entre différents types de protéine en raison des déformations qu'elles imposent aux membranes cellulaires.

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

**Laboratoire:** Biology-inspired physics at mesoscales / Institut Curie research center - Physics department

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

**Responsable de stage :** Pascal Silberzan

**Email :** [pascal.silberzan@curie.fr](mailto:pascal.silberzan@curie.fr) / **Phone :** 01 56 24 67 83

**N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement :** École Doctorale 564 « *Physique en Île de France* »

**Profil recherché:** Physicist or Biologist with a strong motivation for quantitative biology

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

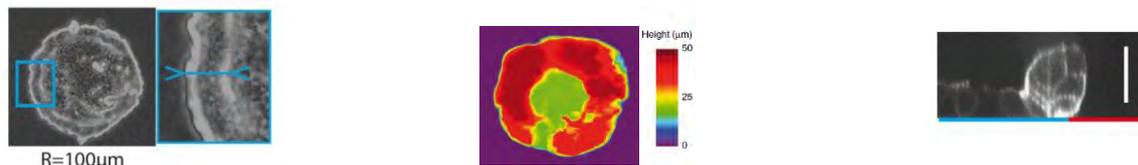
### Collective effects in epithelia: from 2D to 3D

*In vitro*, epithelial cells are known to remain in the form of flat monolayers for long periods of time. This is however not the case *in vivo* where, in many instances, cell sheets buckle, fold, invaginate or fuse together. Interestingly, by doing so, they explore the third dimensions while keeping a memory of their bidimensional arrangement. These morphogenetic mechanisms eventually result in complex structures such as tubules in kidneys, acini in breast, crypts in the digestive tract etc...

From a physics perspective, these situations are another example of the interplay that exists between biological signalling and mechanical cues. They are also striking examples of collective phenomena since these rearrangements occur at the scale of the tissue and involve large scale communication between cells. Our group has been involved in these collective aspects for several years <sup>1,2</sup>. It is therefore natural to ask how these tissue-scale phenomena involving the dimension of the physical space arise; what are the necessary conditions to recapitulate such mechanisms *in vitro*; and how we can theoretically model these situations by including collective behaviors in the description of the phenomena.

In the present interdisciplinary project, we propose to use geometries where cells have the possibility to spontaneously transit from a 2D arrangement to a 3D arrangement in several experiments: In particular, we have shown that meso-scale confinement may trigger such a transition <sup>2</sup> (Figure). Therefore, we will culture cells in confining domains and quantitatively monitor the transition they experience from 2D to 3D when they reach high surface densities <sup>3</sup>. Mechanical forces exerted by these tissues on their underlying substrate will be measured <sup>4</sup> and compared with the activity of the relevant proteins to test the hypotheses underlying this 2D/3D transition. Other geometries where cells can experience and/or trigger an out-of-plane curvature (tubes, spheres, ...) will also be tested as well as textured substrates.

This project is conducted in strong collaboration with biologists and theoreticians from the Institut Curie and the ENS. It will be the basis of a PhD project.



Left panel: Phase contrast image of a confined epithelium (3 days culture). A rim at the border of the domain is clearly visible. Center: Color-coded 3D reconstruction. The pluricellular rim extends out of the plane after 3 days (red color). Right panel: xz section of the rim. The blue and red colors denote respectively the cell-adhesive and the cell-repellant surfaces (bar=20µm). From <sup>2</sup>.

#### References

1. Reffay, M. *et al.* Interplay of RhoA and mechanical forces in collective cell migration driven by leader cells. *Nat. Cell Biol.* **16**, 217 (2014).
2. Deforet, M., Hakim, V., Yevick, H. G., Duclos, G. & Silberzan, P. Emergence of collective modes and tri-dimensional structures from epithelial confinement. *Nat. Commun.* **5**, 3747 (2014).
3. Eisenhoffer, G. T. *et al.* Crowding induces live cell extrusion to maintain homeostatic cell numbers in epithelia. *Nature* **484**, 546–9 (2012).
4. Du Roure, O. *et al.* Force mapping in epithelial cell migration. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **102**, 2390–5 (2005).

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire: Institut de Chimie des Substances Naturelles, CNRS UPR2301**

**Adresse : 1 avenue de la Terrasse, 91190 Gif-sur-Yvette**

**Responsable de stage : Christina SIZUN**

**Email : christina.sizun@cnrs.fr**

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED 425, Innovation thérapeutique**

**Profil recherché: Etudiant(e) avec une formation en physique intéressé(e) par des applications biologiques**

**Possibilité de poursuite en thèse : oui**

**Financement envisagé : pas de financement spécifique à proposer pour l'instant**

**Titre du stage : Etude par RMN de nanoparticules à visée thérapeutique fonctionnalisées par des sucres**

## **Résumé :**

Les chimiokines sont des cytokines pouvant induire la migration cellulaire vers des tissus cibles par formation de gradients, par exemple celle de leucocytes vers un tissu enflammé. Dans le cas de la chimiokine CXCL12, ces gradients résultent des interactions de CXCL12 avec les chaînes de glycosaminoglycanes (GAG) des protéoglycanes présents à la surface cellulaire et à la matrice extracellulaire, en particulier les héparanes sulfates (HS). L'activité de CXCL12 est modulée à travers ces interactions. Or CXCL12, qui active spécifiquement le récepteur membranaire CXCR4 présent dans plusieurs types de cellules cancéreuses, est impliquée dans la survie, la prolifération, l'angiogenèse et la migration des cellules cancéreuses. La paire CXCL12/CXCR4 est également étudiée de manière intensive pour son rôle dans l'inflammation et les maladies auto-immunes.

Une des possibilités de développer de nouveaux antagonistes de l'axe CXCL12/CXCR4 consiste à bloquer CXCL12 par des GAG. Or les chaînes de GAG sont constituées par la répétition d'un motif disaccharide, qui à lui seul présente un nombre de variants important. Comme le polysaccharide naturel de HS peut contenir jusqu'à une centaine de disaccharides, la diversité moléculaire des HS est presque infinie. Les motifs structuraux ainsi créés permettent une spécificité d'interaction avec des chimiokines données à la surface des cellules. Une première approche consiste à synthétiser des chaînes de disaccharides suffisamment longues pour gagner en sélectivité. Une approche alternative consiste à générer de la variabilité grâce à des surfaces auto-assemblées. Or il a été montré récemment que des surfaces bidimensionnelles d'or auto-assemblées, obtenues à partir de mélanges de deux unités disaccharides, permettait de créer des motifs de reconnaissance pour discriminer des protéines (Hou et al, J Vis Exp, 2014).

Le but de ce stage sera de fabriquer des surfaces auto-assemblées tridimensionnelles à base de deux unités disaccharides, puis d'analyser leurs propriétés par une approche combinée de diffusion de la lumière et de RMN HR-MAS (RMN avec rotation à l'angle magique haute résolution). Cette technique est utilisée en particulier pour étudier des matériaux "mous". Ces expériences permettront de connaître la composition des surfaces, mais aussi le comportement dynamique des ligands à la surface des nanoparticules. Dans un premier temps des nanoparticules d'or fonctionnalisées avec des ligands thiolés, disponibles, seront étudiées. Dans un deuxième temps l'étude sera étendue à d'autres types des nanoparticules, plus biocompatibles et également disponibles. Dans un troisième temps des études d'interaction par RMN seront réalisées avec la chimiokine CXCL12 pour ces deux types de nanoparticules. Ce projet sera réalisé en étroite collaboration avec l'équipe de Dr. David Bonnaffé à Orsay.

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire :** Laboratoire Matière et Systèmes Complexes (MSC) <http://lab513.fr/labr>

**Adresse :** Université Paris Diderot - Bâtiment Condorcet - 10, rue Alice Domon et Leonie Duquet

**Responsable de stage :** Jean Marc Di Meglio, Prof Paris Diderot

**Email :** [jean-marc.dimeglio@univ-paris-diderot.fr](mailto:jean-marc.dimeglio@univ-paris-diderot.fr)

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

**Profil recherché :** Physique / Biologie

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** à définir

**Titre du stage :** Robustness of electro taxis locomotion in *C. elegans*

### Résumé :

Worms (*C. elegans*) have the striking capacity to detect electric field and navigate towards low potential regions. Here, we want to address how robust this sensory behavior is depending on the electric field properties. We have built an automated experimental platform that allows us to apply an electric field and follow the locomotion of single worms while they try to move towards the negative pole. Interestingly after changing the direction of the electric fields several times, some worms lose track of the correct direction and need some time without any stimulation before being able to detect again the presence of an electric field. We want to study this phenomenon quantitatively to find out what sets the robustness of the electro tactive behavior in *C. elegans*. We will use several mutant strains and advanced image analysis to quantify the trajectories of worms moving in a time varying electric field.

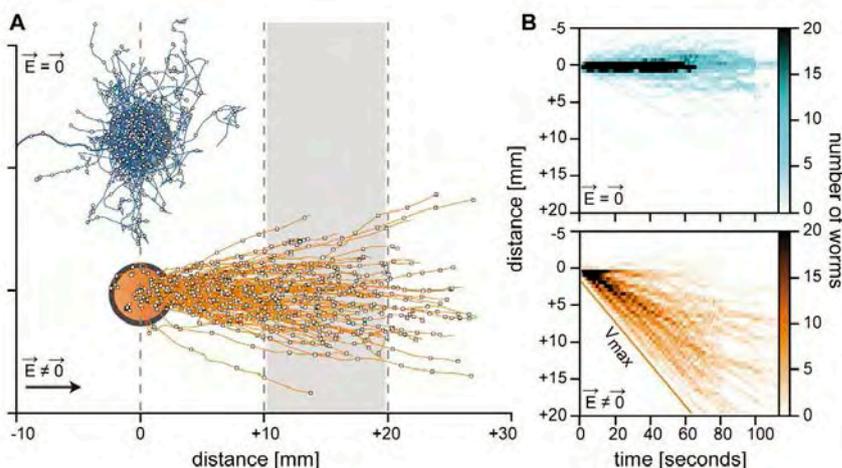


Figure : Typical trajectories of *C. elegans* worms without (blue) or with (orange) the presence of an electric field. The electro tactive behaviour is very robust for a constant electric field and can be used to serial sort worms according to their locomotor abilities.

### Bibliography :

F. Lebois, P. Sauvage, C. Py, O. Cardoso, B. Ladoux, P. Hersen, J-M. Di Meglio, The *C. elegans* gait is continuously variable and determined by ambient mechanical stress; *Biophysical Journal*, 102, 2791-98 (2012).

Xavier Manière, Félix Lebois, Ivan Matic, Benoit Ladoux, Jean-Marc Di Meglio and Pascal Hersen., Running worms: *C. elegans* self-sorting by electro taxis; *PLoS One*, 6(2), e16637 (2011).

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire :** Laboratoire Matière et Systèmes Complexes (MSC) - <http://lab513.fr/labr>

**Adresse :** Université Paris Diderot - Bâtiment Condorcet - 10, rue Alice Domon et Leonie Duquet

**Responsable de stage :** Benoit Sorre

**Email :** [benoit.sorre@univ-paris-diderot.fr](mailto:benoit.sorre@univ-paris-diderot.fr)

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

**Profil recherché :** Physique / Biologie

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

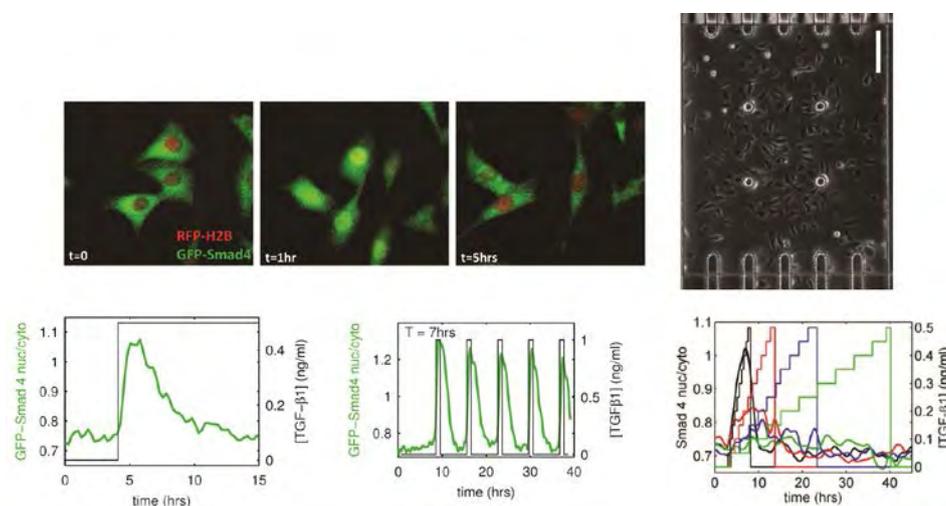
**Financement envisagé :** à définir

**Titre du stage :** How cells encode differentiation signals?

## Résumé :

During embryonic development, cells gradually go from pluripotent to highly specialized states. This process is guided by morphogens, a class of secreted factors that have been shown *in vitro* to be able dictate cell fate in a dose-dependent manner. How morphogens operate *in vivo* to define cell fate is still unclear, especially as we have recently shown that the temporal profile of the concentration of morphogen could be as important as its absolute concentration. (see Sorre et al. 2014)

We will focus on Nodal signaling, a morphogen of the TGF- $\beta$  family that plays a crucial role in early development as well as in cancer. Using a combination of automated microfluidic cell culture and single cell analysis, we propose to study how mouse embryonic stem cells encode Nodal signaling and how this defines their subsequent differentiation into ectoderm, mesoderm or endoderm.



**Figure 1 :** top : example of fluorescent reporter for TGF- $\beta$  signaling (green): the reporter is in the cell nucleus when the pathway is active. Bottom: example of cell response to various temporal profiles of stimulation. From left to right: step, pulses and ramps at various speeds. The response to a TGF- $\beta$  concentration step is transient and adaptive, slowly increasing the ligand concentration diminishes the response and well-spaced pulses of ligand combine additively resulting in greater pathway output than with constant stimulation

During this internship, you will have the opportunity to learn the following techniques/concepts: micro-fabrication, micro-patterning, surface modification for cell culture, image analysis, single cell tracking, mouse Embryonic Stem Cell culture, molecular cloning, classical embryology, mathematical modeling of cell fate decision and patterns formation. The project will be done in close collaboration with the lab of J. Collignon (mouse embryology) at IJM.

## Bibliography:

Sorre, B., Warmflash, A., Brivanlou, A. H., & Siggia, E. D. (2014). Encoding of Temporal Signals by the TGF- $\beta$  Pathway and Implications for Embryonic Patterning. *Developmental Cell*,

Warmflash, A., Sorre, B., Etoc, F., Siggia, E. D., & Brivanlou, A. H. (2014). A method to recapitulate early embryonic spatial patterning in human embryonic stem cells. *Nature Methods*

Warmflash, A., Zhang, Q., Sorre, B., Vonica, A., Siggia, E. D., & Brivanlou, A. H. (2012). Dynamics of TGF- $\beta$  signaling reveal adaptive and pulsatile behaviors reflected in the nuclear localization of transcription factor Smad4. *PNAS*

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire :** Laboratoire Matière et Systèmes Complexes (MSC) - <http://lab513.fr/labr>

**Adresse :** Université Paris Diderot - Bâtiment Condorcet - 10, rue Alice Domon et Leonie Duquet

**Responsable de stage :** Benoit Sorre, CNRS

**Email :** [benoit.sorre@univ-paris-diderot.fr](mailto:benoit.sorre@univ-paris-diderot.fr)

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

**Profil recherché :** Physique / Biologie

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

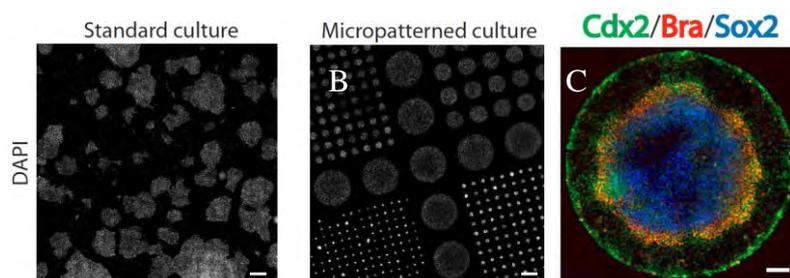
**Financement envisagé :** à définir

**Titre du stage :** Bottom-up Approach to Mammalian Gastrulation

## Résumé :

One of the most striking feature of embryonic development is that differentiation is happening in a spatially ordered fashion: tissue self-organize to form well-defined patterns. During gastrulation, the cells of the embryo are allocated into three germ layers: ectoderm, mesoderm and endoderm. Elegant work in the fish, frog, and mouse embryos has established that spatial patterning during gastrulation is under the control of the morphogen pathways (Activin/Nodal, BMP, Wnt...). However, studying the spatio-temporal dynamics of pattern formation is difficult in those systems, because of their inherent lack of observability (especially in organisms that develop in utero) and manipulability : it is not possible in an embryo to control in a quantitative manner the parameters that are likely to be relevant for the establishment of the multi cellular pattern such as the size and shape of the tissue and its physical and chemical environment.

Recently, we took the first step toward in vitro recapitulation of early embryonic patterning by showing that Embryonic Stem Cells (ESCs) confined to circular disks comparable in size to mammalian embryos using micropatterning technology and treated with the gastrulation inducing signal BMP4 differentiate to an outer trophectoderm-like ring followed by the three embryonic germ layers in an ordered, reproducible sequence along the radial axis of the colony. These results demonstrate that geometric confinement is sufficient to trigger self-organized patterning in hESCs and that the intrinsic tendency of stem cells to make patterns can be harnessed by controlling colony geometries, and provides a quantitative assay for studying paracrine signaling in early development.



**Figure 1:** ESCs grown under standard and micropatterned conditions show heterogeneous and standardized colony geometries, respectively. Reproducible spatial patterning observed after 42h of differentiation in BMP4 (Sox2: ectoderm, Bra:mesoderm, Cdx2 :trophectoderm).

The observed pattern doesn't however recapitulate all the features of the patterning observed in embryos, suggesting that the imposed boundary conditions are too stringent or incorrectly defined. By taking advantage the micro-fabrication and the micro-fluidics toolbox, we propose here to study how the physical (stiffness of the substrate, size and shape of the tissue) and chemical (spatio-temporal profile of differentiating signals) properties of the cells micro-environment is affecting the final pattern, in order to define what is the minimal set of boundary conditions allowing for proper gastrulation.

During this internship, you will have the opportunity to learn the following techniques/concepts: micro-fabrication, micro-patterning, surface modification for cell culture, image analysis, single cell tracking, mouse Embryonic Stem Cell culture, molecular cloning, classical embryology, mathematical modeling of cell fate decision and patterns formation. The project will be done in close collaboration with the lab of J. Collignon (mouse embryology) at IJM.

## Bibliography:

Sorre, B., Warmflash, A., Brivanlou, A. H., & Siggia, E. D. (2014). Encoding of Temporal Signals by the TGF- $\beta$  Pathway and Implications for Embryonic Patterning. *Developmental Cell*,

Warmflash, A., Sorre, B., Etoc, F., Siggia, E. D., & Brivanlou, A. H. (2014). A method to recapitulate early embryonic spatial patterning in human embryonic stem cells. *Nature Methods*

Warmflash, A., Zhang, Q., Sorre, B., Vonica, A., Siggia, E. D., & Brivanlou, A. H. (2012). Dynamics of TGF- $\beta$  signaling reveal adaptive and pulsatile behaviors reflected in the nuclear localization of transcription factor Smad4. *PNAS*

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire :** Laboratoire Matière et Systèmes Complexes (MSC) <http://lab513.fr/labr>

**Adresse :** Université Paris Diderot - Bâtiment Condorcet - 10, rue Alice Domon et Leonie Duquet

**Responsable de stage :** Pascal Hersen, CNRS

**Email :** [pascal.hersen@univ-paris-diderot.fr](mailto:pascal.hersen@univ-paris-diderot.fr)

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

**Profil recherché :** Physique / Biologie

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** à définir

**Titre du stage :** S. Cerevisiae Growth in Cylindrical Colonies

### Résumé :

Microorganisms growing on solid media can form various complex shapes, yet to be fully understood. In our lab, we study *Saccharomyces cerevisiae* colonies growth by restraining access to nutrients using patterned filtration membrane with selectively blocked pores. When grown on such membranes, yeast colonies can adopt any shapes, growing as if they were extruded from the patterns of porosity. In particular, it is possible to grow yeast cylindrical colonies which grow linearly with time for typically two weeks. This growth rate can be predicted assuming one limiting nutrient diffusion (glucose) and that only some cells near the bottom of the cylinder (closer to the glucose source) are able to divide. Importantly, we showed that the growth rate of the cylinder, does not depend only on the single cell growth rate, but is rather a function of the the single cell growth rate and the specific absorption of glucose. This suggests that cells that are the fittest in well mixed, liquid culture, are not necessarily forming the fastest growing colonies.

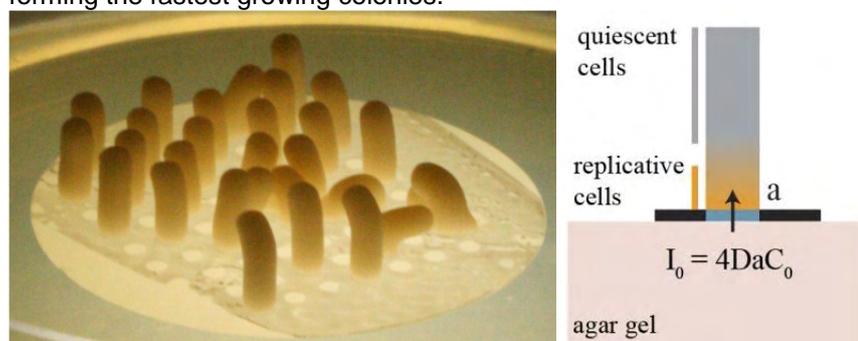


Figure: (left) An array of yeast cylindrical colonies. Using a laser based scanner, we can measure the morphogenesis of yeast colonies with an excellent accuracy ( $<10 \mu\text{m}$ ). Using this we can relate the growth rate to the incoming nutrient flux (right) and the geometry of the colony.

To check this hypothesis, we are looking for a M2 physicist to improve our prototype of a colony scanner in order to automatically follow the growth rate of yeast colonies on different carbon sources and with different genetic background. These results will be compared to the growth rate of single cells grown in similar conditions. This way we will compare the "fitness" of an assembly of cells to the fitness of its individuality and outline the emergence of complex, collective behaviour that are set by yeast metabolic interactions with their environment.

**Bibliography :**

C. Vulin, J-M. Di Meglio, A. B. Lindner, A. Daerr, A. Murray, P. Hersen, Growing Yeast into Cylindrical Colonies, *Biophysical Journal*, 106, 2214–2221, 2014.

Hallatschek O., Hersen P., Ramanathan S., Nelson D., Genetic drift at expanding frontiers promotes gene segregation; *PNAS*, 104, 19926-19930 (2007).

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire :** Laboratoire Matière et Systèmes Complexes (MSC) <http://lab513.fr/labr>

**Adresse :** Université Paris Diderot - Bâtiment Condorcet - 10, rue Alice Domon et Leonie Duquet

**Responsable de stage :** Pascal Hersen, CNRS

**Email :** [pascal.hersen@univ-paris-diderot.fr](mailto:pascal.hersen@univ-paris-diderot.fr)

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

**Profil recherché :** Physique / Biologie

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** à définir

**Titre du stage :** Systems Biology of the adaptation to stress of the Yeast *S. Cerevisiae*

## Résumé :

We are interested in understanding how simple organisms, such as yeast cells, detect and adapt to changes of their environment. We combine molecular biology, microfluidics and microscopy to observe living cells while they respond to controlled, periodic fluctuations of their chemical environment. We are now able to follow single cells over several divisions while changing their environment at will. We are presently looking for a student who wants to study signaling dynamics and transcriptional adaptation mechanism in fluctuating environment. Among several possible projects, we propose to start by focusing on the cell cycle regulation in presence of an external (osmotic) stress and on the physical limits of gene expression of yeast cells in severe stress conditions.

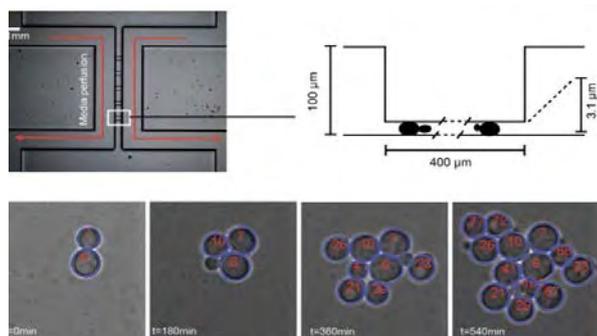


Figure: This two-layer microfluidic device can be used to grow yeast cells as a monolayer for very long time. It allows to segment and track yeast cells and to access to single cell gene expression. This allows to perform single cell quantitative analysis and models of gene expression.

1 – How is the cell cycle regulated by periodic osmotic stress in yeast cells? Osmotic stresses are known to trigger the cell cycle arrest in G1 or G2 phases, after the activation of the HOG cascade, a very well known MAPK cascade in yeast. The dynamics of this cell cycle arrest have not yet been studied, although it is likely that arrest and recovery of the cell cycle progression should be done with a correct timing. Here we propose to subject yeast cells to periodic osmotic stress using microfluidics and to monitor cell divisions through several generation over a range of period and stress intensity. We will reconstruct the lineage of cells and observe the effect of genetics modifications of the HOG cascade (mutation, controlled expression through inducible promoters) on the cell cycle arrest duration. This will give us a measurement of the cut off frequency of the different molecular actions that are used by cells to arrest the cell cycle.

2 – How do yeast cells adapt to very high osmotic stress. Yeast cells are known to be able to survive to osmotic stress, by activating the HOG cascade and a large set of genes. However, recent work in our lab show that both this signaling cascade dynamics and transcriptional adaptation of key genes are slowed down for too intense osmotic shock. It can be delayed by several hours. During that time, not much is known on what the cell does. The goal of this project is to study the transcription dynamics of several key genes by fluorescence microscopy, when they are subject to both a strong hyper osmotic shock and a secondary stress (Calcium, Oxidation, Glucose repression, UV...). The differential dynamics of the transcriptional responses to this secondary stress will set the basis to elucidate how cells can adapt and survive to very strong stresses and what are the physical constraints that are placed on these processes.

## Bibliography :

A. Miermont, F. Waharte, S. Hu, S. Bottani, M. McClean, S. Léon and P. Hersen\*, Severe osmotic compression triggers a slowdown of intracellular signaling, which can be explained by molecular crowding; PNAS, 110 (14), 5725-30 (2013).

Hersen, P., et al., Signal Processing by the HOG MAP Kinase pathway, PNAS, 2008.

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire :** Laboratoire Matière et Systèmes Complexes (MSC) <http://lab513.fr/labr>

**Adresse :** Université Paris Diderot - Bâtiment Condorcet - 10, rue Alice Domon et Leonie Duquet

**Responsable de stage :** Pascal Hersen, CNRS

**Email :** [pascal.hersen@univ-paris-diderot.fr](mailto:pascal.hersen@univ-paris-diderot.fr)

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

**Profil recherché :** Physique / Biologie

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** à définir

**Titre du stage :** Optogenetic control of gene expression and Cell-computer Interfaces

## Résumé :

Time lapse fluorescent imaging of cells exposed to time varying stimulus can be used to quantitatively probe the dynamical behavior of such regulatory motifs. In such an experimental framework, cells are often seen as complex machines, which response functions can be measured by time varying stimulations, as it is classically done in electrical and mechanical engineering. Several recent studies have used such approaches to constrain the modeling of regulatory gene networks and signaling pathways. We are, however, far from being able to construct models of biological processes which are as predictive and robust as it is usually the case in physics and engineering. One of the main difficulties is the limited knowledge of the cell state (metabolism, cell cycle, size, age...) that can be accessed through fluorescence imaging and the existence of noise associated with gene transcription. In turn, this strongly limits our ability to drive cellular processes, such as gene expression, over long time with a quantitative accuracy. Nevertheless, having a mean to externally control, in real time, the expression level of a gene of interest, and use this to generate time varying perturbations from within a regulatory network would be a major step towards a better, quantitative understanding of how a cell functions. This would also have important consequences for applied biotechnology. Indeed, a major challenge of synthetic biology is to engineer cells that can robustly perform a synthetic program in a broad range of environmental conditions and despite the stochastic nature of gene expression.

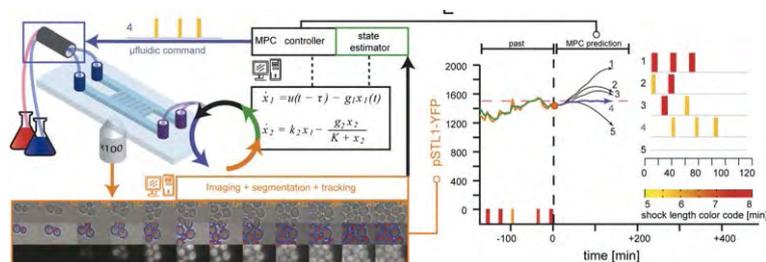


Figure 1. Real time control platform<sup>16</sup>. It is composed of a microscopy system, a micro-fluidic device to change in real time the extracellular environment (left), and a set of algorithms to segment the images, measure the fluorescence of every cells (bottom) and estimate the deviation from the desired real time profile of gene expression (right). Different control strategies and state estimation have been tested successfully. For the CoGEx Project, we will upgrade this system into a versatile platform for the control of population of cells or single cells using chemical or light inducible gene expression systems.

**This motivated us to develop a real time, computer based feedback loop control of gene expression in yeast cells.** The principle of controlling a dynamical system thanks to a feedback loop has been used extensively in engineering and is a key feature of most electromechanical tools of our everyday life. The basic idea is simple: monitor the readout and operate a change on the system to adjust it in real time so that it follows a given target profile. This permits to compensate for environmental fluctuations and un-modeled dynamics. Implementing such strategy in biological systems turned out to be a challenge that we and two other teams recently solved (Uhlendorf et al. 2012, Miliadis-Argeitis et al. 2011, Toettcher et al. 2011). In particular, we were the first to successfully force the level of expression of a fluorescent reporter gene in yeast to follow a time varying profile at the population and at the single cell level over multiple cell generations. **This puts us in a unique position to develop experimental systems aiming at controlling cellular processes through cell-computer interfaces.**

In this context, we are now further developing the experimental and theoretical tools for the computer-based remote-control of live cells. We are looking for a M2 internships to help us improve our open platform based so that we can use optogenetic for the control of gene expression in yeast and/or the control of signaling pathways in mammalian cells. This work will be done in close collaboration with G. Batt (INRIA) with whom we have a long lasting collaboration.

## Bibliography :

J. Uhlendorf, A. Miermont, T. Delaveau, G. Charvin, F. Fages, S. Bottani, G. Batt\*, P. Hersen\*, Long-term model predictive control of gene expression at the population and single-cell levels; PNAS, 109 (35), 14271-6 (2012)

Hersen, P., et al., Signal Processing by the HOG MAP Kinase pathway, PNAS, 2008.

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Nanomanipulation de Biomolécules

Adresse : Institut Jacques Monod, Batiment Buffon Piece 242B, 15 rue Helene Brion 75013 Paris France

Responsable de stage : T. Strick

Email : strick.terence@ijm.univ-paris-diderot.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED 518 Matière Condensée et Interfaces

Profil recherché : Physique ou Biologie

Possibilité de poursuite en thèse : Oui

Financement envisagé : Ecole Doctorale, C'Nano IDF, Cancéropole...

Titre du stage : Single-Molecule Analysis of Transcription by Yeast Polymerase II

Résumé :

Transcription is the mechanism by which a DNA sequence is transcribed into RNA by RNA polymerase. While a fraction of transcripts directly codes for protein, a large fraction of RNAs are non-coding transcripts (up to 90% for humans). Mechanisms which control synthesis of non-coding transcripts are only beginning to come into view [1, 2]. Thus for instance transcription from eukaryotic promoters is often bidirectional, with a coding transcript synthesized from the “top” strand and a non-coding transcript synthesized from the “bottom” strand. Synthesis of these non-coding RNAs is often regulated and actively interrupted by protein partners of RNA polymerase. In recent years a number of molecular motors, such as helicases and translocases [2, 3], have been identified which interact with RNA polymerases so as to regulate non-coding transcription or also clear the DNA of any stalled transcription complexes. Such model systems offer the possibility of studying how molecular motors interact in real-time and to identify synergistic or collective phenomenon in such interactions.

We have thus begun, in collaboration with the group of Domenico Libri [3] at the Institut Jacques Monod, to study yeast Pol II using single-molecule methods so as to identify mechanistic, structural and kinetic features of eukaryotic transcription and its regulation by the Sen1p helicase and the Rad26 translocase. We are particularly interested in determining the magnitude of the mechanical forces used by these proteins to remodel the Pol II, and the timescales over which they do so. Such studies can be carried out with single-molecule nanomanipulation tools already present in the lab (optical tweezers or magnetic tweezers). Furthermore, our group has recently succeeded in combining both single-molecule nanomanipulation and single-molecule fluorescence approaches to study protein-DNA interactions. Correlative approaches made possible by this combination of methods include the ability to discern the chemomechanical or catalytic state of a multicomponent protein complex using single-molecule nanomanipulation, while simultaneously monitoring the compositional state of the protein complex using single-molecule fluorescence. This enables one to directly observe cofactor binding and dissociation, and correlate it with the activity of the cofactor. Such studies provide new insights into how molecular motors compete or complement each other as they regulate gene expression.

[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] A bacterial-like mechanism for transcription termination by the Sen1p helicase in budding yeast.  
O. Porrua and D. Libri (2013) *Nat. Struct. Mol. Biol.* 20: 887—891

[3] 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.

# Bacterial growth at the single-molecule level



**Laboratoire:** G5 Microbial Morphogenesis and Growth  
**Website:** <https://sites.google.com/site/vanteeffelenlab/>  
**Adresse:** Institut Pasteur, 28 rue du Doctor Roux, 75015 Paris  
**Responsable de stage:** Sven van Teeffelen **Email :** [sven@pasteur.fr](mailto:sven@pasteur.fr)  
**N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement:** currently preparing affiliation with BioSPC  
**Profil recherché:** Background in physics, chemistry, engineering, or quantitative biology, ideally with some experience in programming.  
**Possibilité de poursuite en thèse:** oui  
**Financement envisagé:** oui  
**Titre:** Bacterial growth at the single-molecule level.

Bacteria control their size and shape by remodeling their cell wall using both cytoskeletal proteins and cell-wall enzymes [1-3]. In Gram-negative bacteria many of these proteins are embedded in the plasma membrane or in the outer membrane [4]. Within this project we aim to study the localization and dynamics of important outer-membrane proteins using single-particle fluorescence microscopy (PALM) [5] (Nobel prize 2014) and fluorescence recovery after photobleaching (FRAP). Outer-membrane proteins have not been studied extensively in the past due to labeling difficulties. We will take advantage of recently developed techniques to overcome these problems. We will compare and correlate the localization patterns and dynamics observed with different markers of cell-wall remodeling, such as the cytoskeleton MreB [2].

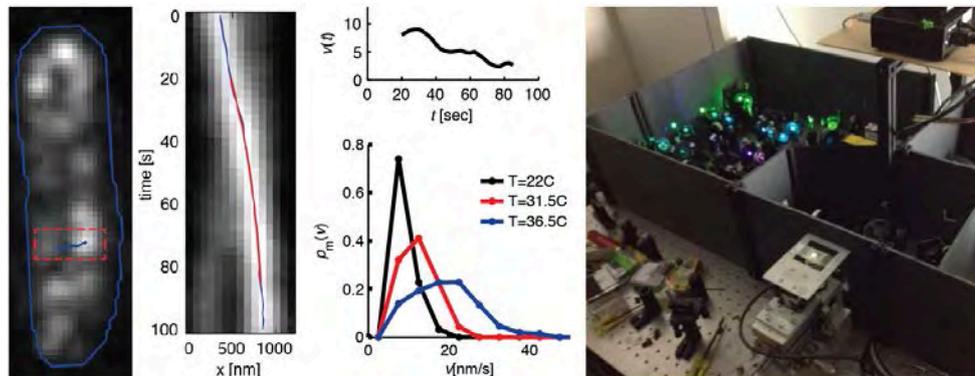


Figure: MreB dynamics as followed by fluorescence video microscopy (snapshot, kymograph, single-filament velocity, velocity distribution, fluorescence microscope).

We have further projects available at the interface of physics and biology, e.g., studying the molecular determinants of bacterial cell division (with Yoshiharu Yamaichi, Gif-sur-Yvette), single-cell microscopy of cell-size variability in biofilms (with Jean-Marc Ghigo, Institut Pasteur), using the CRISPR technology to understand the importance of protein levels and protein stoichiometry for cell-wall proteins (with David Bikard, Institut Pasteur), and modeling the interaction of bacterial membrane proteins by computer simulations and theory. Please contact me for further details.

## References

- 1) Amir A, vanTeeffelen S (2014) *Sys Synt Biol* 14:9143-9152
- 2) van Teeffelen S, et al. (2011) *PNAS* 108:15822
- 3) Ursell TS, et al. (2014) *PNAS* 111(11):E1025–E1034
- 4) Typas A, et al. (2011) *Nat Rev Microbiol* 10(2):123–136
- 5) Manley S, et al. (2008) *Nat Methods* 5(2):155-157

**SUJETS DE STAGE / THESE PROPOSES AU MMN (ESPCI) – OCTOBRE 2014**  
**10 rue Vauquelin, 75005 PARIS**

\* Microfluidique sur papier pour pays en développement

La microfluidique sur papier, c'est une nouvelle technologie où les propriétés originales des écoulements sont mises à profit pour faire, par exemple, des tests diagnostic dans les pays en développement, ou des tests génomiques rapides sur des échantillons sanguins. Le but sera de mettre en oeuvre cette technologie de manière originale pour les appliquer à ces deux situations.

L'avantage de la microfluidique sur papier, c'est son bas cout, la possibilité de bruler le test pour éviter toute contamination, l'analyse étant effectuée, la disponibilité du matériau partout où il y a du bois. Le fluide circule par capillarité, et, grace à une technique simple, on peut le guider dans son mouvement, pour faire des étapes en séries, telles que celles imposés par les tests biologiques.

Le projet de stage/thèse est donc de créer des systèmes basés sur la microfluidique papier, permettant de faire de tests de maladies infectieuses sur des échantillons desactivés, en collaboration avec Pasteur, le cadre étant les pays en développement. Un deuxième volet consistera à obtenir simplement, à partir d'échantillons sanguins stockés sur le papier, des informations génomiques, en collaboration avec l'hopital DEBRE.

*Collaboration: Hopital DEBRE, Faculté de Pharmacie Paris V, Pasteur.*

Contact [patrick.tabeling@espci.fr](mailto:patrick.tabeling@espci.fr)

0140795153/5155

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire :** Membrane Traffic in Health and Disease

**Adresse :** 15, rue Hélène Brion 75013 Paris

**Responsable de stage :** David Taresté

**Email :** david.taresté@inserm.fr

**N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement :** 518 – ED Physique en île de France

**Profil recherché :** biophysique, biochimie, biologie cellulaire

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** AFM, Labex, Ministériel

**Titre du stage :**

Molecular mechanisms of mitochondrial fusion under normal and pathogenic conditions

**Résumé :**

Mitochondria form a highly dynamic network of organelles which constantly fuse and divide. The balance between these antagonist processes of fusion and division is important for normal mitochondrial and cellular function.

Dysfunction of the mitochondrial fusion machinery notably causes the muscular neuropathy Charcot-Marie-Tooth subtype 2A (CMT2A). The majority of cases of CMT2A are due to mutations in the Mitofusin 2 (Mfn2) molecule, a large GTPase localized to the outer mitochondrial membrane that is essential for mitochondrial fusion. More than 40 mutations residing in the various functional domains of the protein have been reported. The molecular mechanisms by which these mutations lead to neuropathy have not yet been elucidated. The goal of this project is to explore the effect of recombinant CMT2A Mfn2 mutant proteins on membrane dynamics in cellular and artificial membrane systems.

We have recently developed strategies for the purification and reconstitution of wild-type Mfn2 into artificial membranes. We have also established *in vitro* biophysical assays (measuring membrane deformation, adhesion and fusion) to gain insight into how these proteins induce fusion. Here, we will purify CMT2A Mfn2 mutants and study their fusion activity *in situ* with permeabilized cells and *in vitro* with isolated mitochondria or liposomes mimicking the mitochondrial membrane. We will also embark on a structure-function analysis to delineate the role of each functional domain of Mfn2 in the mitochondrial fusion process. Identification of minimal protein sequences for fusion could help restoring mitochondrial fusion in a pathogenic CMT2A background.

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

**Laboratoire :** *Centre de Mathématiques et de leurs Applications (CMLA) ENS de Cachan*

**Adresse :** *61 avenue du Président Wilson, 94235 CACHAN CEDEX, France*

**Responsable de stage :** *Luba TCHERTANOV*

**Email :** [luba.tchertanov@ens-cachan.fr](mailto:luba.tchertanov@ens-cachan.fr)

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** *École Doctorale Sciences Pratiques(EDSP) ENS Cachan, n°285*

**Profil recherché :** *Math/Physique pour modélisation et simulation des systèmes biologiques*

**Possibilité de poursuite en thèse :** *Ce stage servira de tremplin d'une future thèse*

**Financement envisagé :** *IDEX Paris-Saclay Initiative Doctorale Interdisciplinaire 2015/Bourse MESR (ENSC)*

---

**Titre du stage :** **Régulation allostérique du récepteur NMDA**

**Résumé :** Les récepteurs de *N-methyl-D-aspartate* (NMDARs) constituent l'un des types de canaux activés par le glutamate et sont exprimés en grande quantité au niveau du système nerveux central et dans les tissus non-neuronaux. Tenant compte du comportement intégré des systèmes biologiques, l'inhibition du NMDAR est une stratégie prometteuse pour traiter certaines maladies. Le récepteur NMDA est constitué de 4 sous-unités moléculaires, chacune comportant environ 900 acides aminés, formant un canal à travers la membrane. L'ouverture du canal, nécessaire à l'échange d'ions physiologiques ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ) entre les domaines extra- et intracellulaire, est régulée par différents effecteurs (Gly, Glu) qui se fixent aux différentes sous-unités du récepteur et à différents sites spécifiques. Le comportement allostérique de ce complexe dérive de mouvements collectifs qui n'ont été que peu étudiés jusqu'à maintenant. La publication de la structure du NMDAR en 2014 ouvre la voie pour accéder aux mécanismes de la régulation allostérique de NMDAR.

Dans ce projet (ANR 2015-2017) nous étudions l'impact structural, dynamique et énergétique de différents effecteurs (agonistes et antagonistes) sur le NMDAR. Cette étude permettra d'apporter une meilleure compréhension du fonctionnement de NMDAR, ce qui sera utile à la conception de nouveaux inhibiteurs ou modulateurs spécifiques de ce récepteur.

Les objectifs du stage sont de caractériser la dynamique interne de NMDAR et décrire les chemins de communication dans le récepteur et ses complexes moléculaires. Pour cela, des méthodes de modélisation moléculaire seront employées, en particulier les approches de dynamique moléculaire et dynamique brownienne, l'analyse en modes normaux et les réseaux élastiques selon le protocole appliqué à l'étude des effets de mutations sur les récepteurs tyrosine kinases [1-4] et l'étude des chemins de communication avec la méthode MONETA (*MODular NETwork Analysis*) [5-7] ainsi le dispositif de visualisation 3D stéréoscopique SHIVA [8]. Ces démarches serviront de tremplin d'une future thèse.

### Références de l'équipe sur le sujet/méthodes

1. Laine E., Chauvot de Beauchêne I., Auclair C., **Tchertanov L.** (2011). Mutation D816V alters the internal structure and dynamics of c-Kit cytoplasmic region: Implications for dimerization and activation mechanisms. *PLOS Comput. Biol.*, 7. e1002068.
2. Da Silva Figueiredo Celestino Gomes P., Panel N., Laine E., Pascutti P. G., Solary E. and **Tchertanov L.** (2014). Differential effects of CSF-1R D802V and KIT D816V homologous mutations on receptor tertiary structure and allosteric communication. *PLOS ONE*. May 14; 9(5):e97519. doi: 10.1371/journal.pone.0097519.
3. Vita M, Tisserand J C, Chauvot de Beauchêne I, Panel N, **Tchertanov L**, Mescam-Mancini L, Agopian J, Fouet B, Fournier B, Dubreuil P, Bertucci F, and De Sepulveda P. (2014). Characterization of S628N, a novel KIT mutation found in a metastatic melanoma. *JAMA Dermatology*, doi:10.1001/jamadermatol.2014.143. *Published online October 2014*.
4. Chauvot de Beauchêne I., Alain A., Panel N., Laine E., Trouvé A., Dubreuil P. and **Tchertanov L.** (2014). Oncogenic mutations of KIT receptor differentially modulate tyrosine kinase activity and drug susceptibility. *PLOS Comput. Biol.*; 10(7):e1003749. doi: 10.1371/journal.pcbi.1003749.
5. Laine, E., Auclair, C. and **Tchertanov, L.** (2012). Allosteric Communication across the Native and Mutated KIT Receptor Tyrosine Kinase. *PLoS Comput Biol.* 8(8):e1002661, doi:10.1371/journal.pcbi.1002661.
6. Allain A., Chauvot de Beauchêne I., Langenfeld F., Guarracino Y., Laine E., and **Tchertanov L.** (2014). Allosteric Pathway Identification through Network Analysis from Molecular Dynamics Simulations to Interactive 2D and 3D Graphs. *Faraday Disc.*, DOI: 10.1039/C4FD00024B. 169, 1-18.
7. INTERDEPOSIT CERTIFICATION 2014. Certificat délivré par Agence pour la Protection des Programmes. Inter Deposit Digital Number IDDN.FR.001.020012.000.S.P.2014.000.31235 pour l'œuvre: MODular NETwork Analysis (MONETA) version 2.0 en date du 31 juillet 2013. Les auteurs: **Tchertanov L**, Laine E., Allain A., Chauvot de Beauchêne I.
8. De Vuyst F., Guillas S., Kendira A., Labourdette C., **Tchertanov L.** (2014). L'ENS Cachan voit grand avec le mur d'image SHIVA. *HPC Today*. 26 sept 2014. <http://www.hpctoday.fr/regional/lens-cachan-voit-grand-avec-le-mur-dimages-shiva/>

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

**Laboratoire :** *Centre de Mathématiques et de leurs Applications (CMLA) ENS de Cachan*

**Adresse :** *61 avenue du Président Wilson, 94235 CACHAN CEDEX, France*

**Responsable de stage :** *Luba TCHERTANOV*

**Email :** [luba.tchertanov@ens-cachan.fr](mailto:luba.tchertanov@ens-cachan.fr)

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** *École Doctorale Sciences Pratiques(EDSP) ENS Cachan, n°285*

**Profil recherché :** *Math/Physique pour modélisation et simulation des systèmes biologiques*

**Possibilité de poursuite en thèse :** *Ce stage servira de tremplin d'une future thèse*

**Financement envisagé :** *IDEX Paris-Saclay Initiative Doctorale Interdisciplinaire 2015/Bourse MESR (ENSC)*

---

**Titre du stage :** **Régulation allostérique du récepteur NMDA**

**Résumé :** Les récepteurs de *N-methyl-D-aspartate* (NMDARs) constituent l'un des types de canaux activés par le glutamate et sont exprimés en grande quantité au niveau du système nerveux central et dans les tissus non-neuronaux. Tenant compte du comportement intégré des systèmes biologiques, l'inhibition du NMDAR est une stratégie prometteuse pour traiter certaines maladies. Le récepteur NMDA est constitué de 4 sous-unités moléculaires, chacune comportant environ 900 acides aminés, formant un canal à travers la membrane. L'ouverture du canal, nécessaire à l'échange d'ions physiologiques ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ) entre les domaines extra- et intracellulaire, est régulée par différents effecteurs (Gly, Glu) qui se fixent aux différentes sous-unités du récepteur et à différents sites spécifiques. Le comportement allostérique de ce complexe dérive de mouvements collectifs qui n'ont été que peu étudiés jusqu'à maintenant. La publication de la structure du NMDAR en 2014 ouvre la voie pour accéder aux mécanismes de la régulation allostérique de NMDAR.

Dans ce projet (ANR 2015-2017) nous étudions l'impact structural, dynamique et énergétique de différents effecteurs (agonistes et antagonistes) sur le NMDAR. Cette étude permettra d'apporter une meilleure compréhension du fonctionnement de NMDAR, ce qui sera utile à la conception de nouveaux inhibiteurs ou modulateurs spécifiques de ce récepteur.

Les objectifs du stage sont de caractériser la dynamique interne de NMDAR et décrire les chemins de communication dans le récepteur et ses complexes moléculaires. Pour cela, des méthodes de modélisation moléculaire seront employées, en particulier les approches de dynamique moléculaire et dynamique brownienne, l'analyse en modes normaux et les réseaux élastiques selon le protocole appliqué à l'étude des effets de mutations sur les récepteurs tyrosine kinases [1-4] et l'étude des chemins de communication avec la méthode MONETA (*MODular NETwork Analysis*) [5-7] ainsi le dispositif de visualisation 3D stéréoscopique SHIVA [8]. Ces démarches serviront de tremplin d'une future thèse.

### Références de l'équipe sur le sujet/méthodes

1. Laine E., Chauvot de Beauchêne I., Auclair C., **Tchertanov L.** (2011). Mutation D816V alters the internal structure and dynamics of c-Kit cytoplasmic region: Implications for dimerization and activation mechanisms. *PLOS Comput. Biol.*, 7. e1002068.
2. Da Silva Figueiredo Celestino Gomes P., Panel N., Laine E., Pascutti P. G., Solary E. and **Tchertanov L.** (2014). Differential effects of CSF-1R D802V and KIT D816V homologous mutations on receptor tertiary structure and allosteric communication. *PLOS ONE*. May 14; 9(5):e97519. doi: 10.1371/journal.pone.0097519.
3. Vita M, Tisserand J C, Chauvot de Beauchêne I, Panel N, **Tchertanov L**, Mescam-Mancini L, Agopian J, Fouet B, Fournier B, Dubreuil P, Bertucci F, and De Sepulveda P. (2014). Characterization of S628N, a novel KIT mutation found in a metastatic melanoma. *JAMA Dermatology*, doi:10.1001/jamadermatol.2014.143. *Published online October 2014*.
4. Chauvot de Beauchêne I., Alain A., Panel N., Laine E., Trouvé A., Dubreuil P. and **Tchertanov L.** (2014). Oncogenic mutations of KIT receptor differentially modulate tyrosine kinase activity and drug susceptibility. *PLOS Comput. Biol.*; 10(7):e1003749. doi: 10.1371/journal.pcbi.1003749.
5. Laine, E., Auclair, C. and **Tchertanov, L.** (2012). Allosteric Communication across the Native and Mutated KIT Receptor Tyrosine Kinase. *PLoS Comput Biol.* 8(8):e1002661, doi:10.1371/journal.pcbi.1002661.
6. Allain A., Chauvot de Beauchêne I., Langenfeld F., Guarracino Y., Laine E., and **Tchertanov L.** (2014). Allosteric Pathway Identification through Network Analysis from Molecular Dynamics Simulations to Interactive 2D and 3D Graphs. *Faraday Disc.*, DOI: 10.1039/C4FD00024B. 169, 1-18.
7. INTERDEPOSIT CERTIFICATION 2014. Certificat délivré par Agence pour la Protection des Programmes. Inter Deposit Digital Number IDDN.FR.001.020012.000.S.P.2014.000.31235 pour l'œuvre: MODular NETwork Analysis (MONETA) version 2.0 en date du 31 juillet 2013. Les auteurs: **Tchertanov L**, Laine E., Allain A., Chauvot de Beauchêne I.
8. De Vuyst F., Guillas S., Kendira A., Labourdette C., **Tchertanov L.** (2014). L'ENS Cachan voit grand avec le mur d'image SHIVA. *HPC Today*. 26 sept 2014. <http://www.hpctoday.fr/regional/lens-cachan-voit-grand-avec-le-mur-dimages-shiva/>

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire: **Centre de Mathématiques et de leurs Applications (CMLA) ENS de Cachan**

Adresse : **61 avenue du Président Wilson, 94235 CACHAN CEDEX, France**

Responsable de stage : **Luba TCHERTANOV/ Alain TROUVE**

Email : [luba.tchertanov@ens-cachan.fr](mailto:luba.tchertanov@ens-cachan.fr)/[trouve@cmla.ens-cachan.fr](mailto:trouve@cmla.ens-cachan.fr)

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : **École Doctorale Sciences Pratiques(EDSP) ENS Cachan, n°285**

Profil recherché: **Math/Physique pour modélisation et simulation des systèmes biologiques**

Possibilité de poursuite en thèse : **Ce stage servira de tremplin d'une future thèse**

Financement envisagé : **IDEX Paris-Saclay Initiative Doctorale Interdisciplinaire 2015/Bourse MESR (ENSC)**

---

**Titre du stage : Régulation allostérique des protéines et leurs complexes :  
Analyse par une représentation en réseau modulaire**

**Résumé :**

**Introduction:** L'allostérie est un phénomène universel de régulation des fonctions des protéines. Ce mécanisme résulte de la transmission d'une information, induite par une perturbation locale (effecteur), entre des sites de la protéine spatialement distants. Cette perturbation mécanique conduit au réarrangement structurel d'un ou plusieurs site(s) éloignés spatialement. De tels événements peuvent être décrits sous forme de transmission à grande échelle d'une communication entre résidus au cours d'une dynamique.

**Résultats préliminaires:** Afin de décrire les phénomènes allostériques au niveau atomique, nous avons mis en place une approche originale, *Modular NETWORK Analysis* (MONETA), conçu pour localiser la propagation d'une perturbation au sein d'une protéine [1-2]. MONETA est basé sur la corrélation inter-résidus et les *commute times* calculés à partir de simulations de dynamique moléculaire. En combinant ces descripteurs, le logiciel construit la représentation d'un réseau modulaire, composés de groupes de résidus (*Independent Dynamic Segments, IDSs*) reliés entre eux par des chaînes de résidus (*Communication Pathways, Cps*). Nous avons utilisé MONETA pour étudier la régulation allostérique de plusieurs protéines impliquées dans la transduction du signal cellulaire, les récepteurs tyrosine kinases et leurs nombreux mutants recensés par les cliniciens [1-5].

**Objectives:** La prochaine étape consistera à 1/ la construction d'une méthodologie statistiques consistante pour la représentation, l'analyse et la comparaison des dynamiques à différentes échelles de temps, et entre les différents variantes mutés à partir de jeux de trajectoires simulées en utilisant l'expertise en traitement du signal, modélisation statistique bayésienne et d'analyse de formes du CMLA développée dans d'autre contextes [6,7] ainsi que le dispositif de visualisation 3D stéréoscopique SHIVA [8] et 2/ l'extension des fonctions de MONETA pour l'analyse de systèmes complexes. Les objectifs du stage cibleront trois grands axes, (i) le développement méthodologique; (ii) l'application de MONETA à la description de la communication dans les protéines et (iii) la représentation graphique 2D et 3D des réseaux de communication. Ce sujet est une partie d'un projet pluridisciplinaire impliquant les expertises en calcul bioinformatique, en mathématique et en problématiques cliniques. Les données générées contribueront à l'amélioration de la compréhension des fonctions protéiques et serviront de base à l'élaboration d'inhibiteurs allostériques, capables de contrôler les fonctions protéiques.

Les candidats devront posséder d'une connaissance solide en méthodes computationnelles, en mathématiques, en physiques ou dans une discipline équivalente. Ils feront preuve d'une large expérience dans le domaine interdisciplinaire de la biologie computationnelle, avec une spécialisation en sciences computationnelles plutôt qu'en biologie, et des connaissances solides dans leur domaine de compétences.

1. Laine, E., Auclair, C. and Tchertanov, L. (2012). Allosteric Communication across the Native and Mutated KIT Receptor Tyrosine Kinase. *PLoS Comput Biol.* 8(8):e1002661, doi:10.1371/journal.pcbi.1002661.
2. Allain A., Chauvot de Beauchêne I., Langenfeld F., Guarracino Y., Laine E., and Tchertanov L. (2014). Allosteric Pathway Identification through Network Analysis from Molecular Dynamics Simulations to Interactive 2D and 3D Graphs. *Faraday Disc.*, DOI: 10.1039/C4FD00024B.
3. Laine E., Chauvot de Beauchêne I., Auclair C., Tchertanov L. (2011). Mutation D816V Alters the Internal Structure and Dynamics of c-Kit Cytoplasmic Region: Implications for Dimerization and Activation Mechanisms. *PLoS Comput. Biol.*, 7. e1002068.
4. Da Silva Figueiredo Celestino Gomes P., Panel N., Laine E., Pascutti P. G., Solary E. and Tchertanov L. (2014). Differential effects of CSF-1R D802V and KIT D816V homologous mutations on receptor tertiary structure and allosteric communication. *PLoS ONE.* May 14; 9(5):e97519. doi: 10.1371/journal.pone. 0097519.
5. Chauvot de Beauchêne I., Alain A., Panel N., Laine E., Trouvé A., Dubreuil P. and Tchertanov L. (2014). Oncogenic mutations of KIT receptor differentially modulate tyrosine kinase activity and drug susceptibility. *PLoS Comput. Biol.*; 10(7):e1003749. doi: 10.1371/journal.pcbi.1003749.
6. Amit Y., Allasonnière S. and Trouvé A. (2007), Towards a coherent statistical framework for dense deformable template estimation, *Journal of the Royal Statistical Society B*, 61, 3-29.
7. Trouvé A. and Younes L. (2011). "Shape Spaces" in *Handbook of Mathematical Imaging*, p 1309–1362. Springer.
8. De Vuyst F., Guillas S., Kendira A., Labourdette C., Tchertanov L. (2014). L'ENS Cachan voit grand avec le mur d'image SHIVA. *HPC Today.* 26 sept 2014. <http://www.hpctoday.fr/regional/lens-cachan-voit-grand-avec-le-mur-dimage-shiva/>

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : LPS Ecole Normale Supérieure

Adresse : 24 rue Lhomond 75005 Paris

Responsable de stage : Abdou Rachid Thiam, arthiam.com

Email : thiam@lps.ens.fr

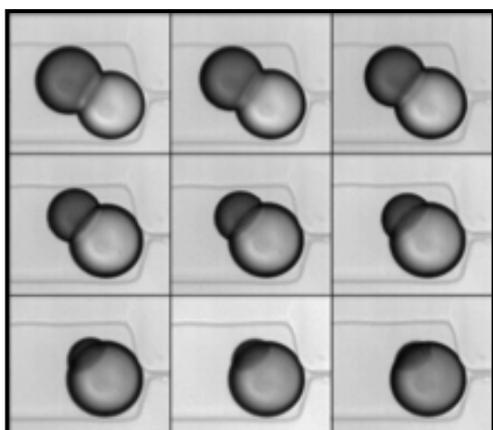
N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : EDPIF564

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

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : oui, a voir avec l'étudiant

Titre du stage : Ripening and Fusion of Droplets



Lipids are source of body energy. Excess lipids, e.g. from food intake, are stored in triglyceride oils forming lipid droplets (LDs) in cells. Expert cells in lipid storage are adipocytes, which contain a big uniglobular LD. Such LD feature in adipocytes is crucial for health. A bad regulation of LDs size and number is attuned to many lipid pathologies such as type II diabetes and obesity. The uniglobular LD shape arises from consecutive “slow coalescence” or ripening between multiple LDs (smaller LDs empty their content to bigger ones), as in the figure (from Thiam et al. 2012). A set of proteins form junctions between the LDs and facilitate their lipid content transfer. The transfer mechanism is still unknown. The difficulty to unveil the mechanism is due to the complexity of LDs environment and the large number of proteins present at their

surface that are involved or not in the transfer. **The aim of the project is to decipher in vitro and ex vivo the lipid transfer mechanism between LDs.** We will form artificial sticky lipid droplets with proteins and study the lipid transfer kinetics. The influence of droplets surface chemistry on the transfer will be probed. Existing physical models will be adapted to determine the transfer mechanism. We will use LDs from cells and follow their lipid transfer kinetics to understand which of the model best describes the mechanism. The project will be developed in collaboration with the Institute of Metabolic Science of Cambridge.

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : LPS Ecole Normale Supérieure

Adresse : 24 rue Lhomond 75005 Paris

Responsable de stage : Abdou Rachid Thiam, arthiam.com

Email : thiam@lps.ens.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : EDPIF564

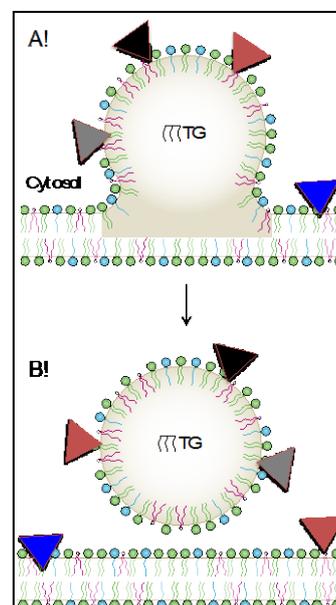
Profil recherché : physicien, biophysicien, biochimiste, physico-chimiste

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : oui, à voir avec l'étudiant

**Titre du stage : Mécanismes et contrôle de la formation des corps lipidiques**

Les corps lipidiques sont des sources de bioénergie en général, et pour la cellule en particulier. Tous les organismes contiennent des corps lipidiques qu'ils stockent sous forme d'émulsions de gouttes lipidiques dans une phase aqueuse. Une bonne régulation de ces corps lipidiques est cruciale pour la santé ; une mauvaise régulation conduit par exemple au diabète, et provoque des maladies cardiovasculaires. La première étape de cette régulation passe par la maîtrise de la formation des gouttes (compositions protéique et lipidique, taille, propriétés physicochimiques etc.). Cette formation a lieu par accumulation de la phase huileuse, généralement des triglycérides (TG), entre les monocouches formant la bicouche du Réticulum Endoplasmique (RE) de la cellule (fig. A). Lorsque suffisamment de molécules de TG sont accumulées dans la bicouche, la phase huileuse ainsi formée se détache de la bicouche pour devenir une goutte indépendante (fig. B). Les études faites présentement sont essentiellement de biologie et ne permettent pas de comprendre comment cette formation a lieu. Nous proposons de passer par une reconstitution *in vitro* (déjà initiée) qui permettra de contrôler certains paramètres physiques de la membrane (tension de surface, courbure des surfactants, charges) et de les varier pour comprendre la formation des gouttes : il s'agit des émulsions adhésives. Des gouttes d'eau de ces émulsions sont capables d'adhérer entre elles dans une huile pour former un bicouche ; cela permettra de reconstituer exactement la configuration représentée dans la figure où deux phases aqueuses sont séparées par une bicouche contenant des lipides.



Ce stage offre une approche interdisciplinaire combinant la biologie des lipides, leur métabolisme, la biophysique des membranes et la physicochimie des émulsions. La microfluidique sera un outil de base pour ces études.

Les prédictions que les résultats *in vitro* permettront d'établir pourront être testées au niveau de la cellule (dans le cadre d'une thèse par exemple si l'étudiant est intéressé, pour ensuite comprendre la contribution des protéines dans la formation des gouttes lipidiques).

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : LPS Ecole Normale Supérieure de Paris

Adresse : 24 rue Lhomond 75005 Paris

Responsable de stage : Abdou Rachid Thiam, arthiam.com

Email : [thiam@lps.ens.fr](mailto:thiam@lps.ens.fr)

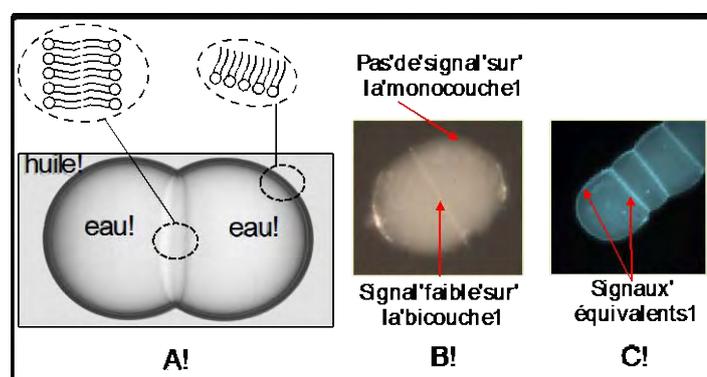
N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : EDPIF564

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

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : oui, a voir avec l'étudiant

Titre du stage : Liaisons de protéines sur des interfaces monocouche et bicouche



Les lipides sont des sources d'énergie des organismes. Une mauvaise utilisation des lipides conduit par exemple chez l'homme au diabète, et provoque des maladies cardiovasculaires. Une problématique importante de régulation des lipides est la liaison spécifique de protéines de lipide sur des interfaces de monocouche et de bicouche. Présentement, très peu de données expérimentales, voire aucune, permettent d'avoir une compréhension de la liaison de ces protéines. Pour comprendre comment la régulation de ces liaisons a lieu, nous

proposons d'utiliser une approche basée sur les émulsions adhésives (voir fig. A) permettant, dans un même système, de former une monocouche et une bicouche. Le point essentiel du stage sera de contrôler les paramètres physiques des interfaces (tension de surface, courbure des surfactants phospholipidiques, charges) afin de comprendre et moduler la liaison des protéines. Deux exemples sont montrés en fig. B et C où les protéines se mettent différemment sur les interfaces monocouche et bicouche. Le projet débutera par une caractérisation simple du système dans lequel nous incorporerons par la suite des protéines cibles modulant les lipides.

Le stage sera à caractère interdisciplinaire, entre la biologie, la physique et la physicochimie des émulsions. La microfluidique sera un outil de base utilisé lors des études.

Enfin, ce projet pourra très facilement déboucher sur une thèse, suivant les motivations de l'étudiant, pour mieux comprendre, *in vitro* et *in vivo*, la liaison de protéines de lipide et leur régulation.

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire : Laboratoire Jean Perrin (LJP)**

**Adresse : 4 place Jussieu, 75005 Paris**

**Responsable de stage : Nelly Henry, Philippe Thomen**

**Email : [nelly.henrt@upmc.fr](mailto:nelly.henrt@upmc.fr) ; [philippe.thomen@upmc.fr](mailto:philippe.thomen@upmc.fr)**

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

**Profil recherché : Ce stage s'adresse à un étudiant physicien ou physico-chimiste motivé par l'étude du vivant.**

**Possibilité de poursuite en thèse : oui**

**Financement envisagé : indemnités de stage**

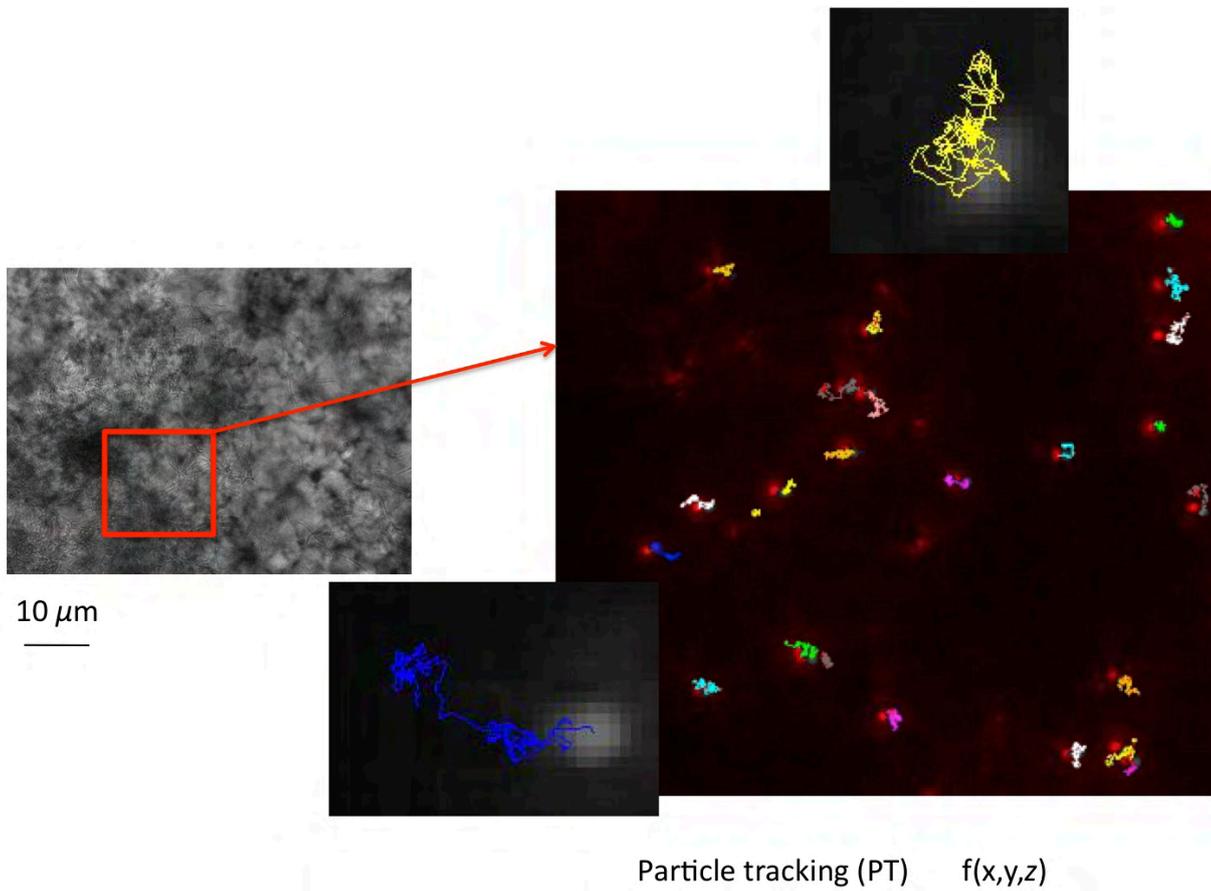
**Titre du stage : Développement d'une stratégie de Tracking de particules pour étudier les propriétés physiques d'un biofilm (*Particle Tracking strategy to probe biofilm physical properties*)**

Other subjects are also available in the group: <http://www.labos.upmc.fr/ljp/?jobs>

### Résumé :

**Summary** : Bacterial biofilms are 3D structures made of cells dividing in a matrix of extra-cellular substances that they secrete themselves once anchored to a surface. This dense material exhibits a strong heterogeneity resulting from the formation of multiple gradients of the physico-chemical conditions. To understand the rules underpinning the development of these living structures, the characterizing of their properties *in situ* without disturbing the native organization is essential. To this purpose, we have recently developed a new approach to determine the local mechanical properties of the bacterial biofilms based on the remote actuation of magnetic particles<sup>1</sup>. This method enables the precise 3D mapping of the biofilm visco-elastic parameters revealing the details of the internal organization of the biofilm and their evolution upon various treatments<sup>2</sup>. Now we are looking to evolve this approach towards a more flexible and opened to automation one using a passive microrheology strategy.

**The objective** of the internship is to implement the analysis of the internal passive motion of micro-particles dispersed in the biofilm and to interpret this motion in terms of physical properties based on the existing physical models<sup>3</sup> and on the active magnetic rheology data. The internship will start with model experiments in synthetic gels and continue with living bacterial biofilms grown in microfluidic microfabricated channels.



1. Galy, O., P. Latour-Lambert, K. Zrelli, C. Beloin, J. M. Ghigo, and N. Henry. 2012. Mapping of bacterial biofilm local mechanics by magnetic microparticle actuation. *Biophysical journal* 5:1400-1408.
2. Zrelli, K., O. Galy, P. Latour- Lambert, P. L. Kirwan, J. M. Ghigo, C. Beloin, and N. Henry. 2013. Bacterial biofilm mechanical properties persist upon antibiotic treatment and survive cell death. *New Journal of Physics* 15:125026.
3. Mason, T. G., K. Ganesan, J. H. van Zanten, D. Wirtz, and S. C. Kuo. 1997. Particle Tracking Microrheology of Complex Fluids. *Physical Review Letters* 79:3282-3285.

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire:** Laboratoire de Physique de l'ENS Lyon & Laboratoire TIMC-IMAG (Grenoble)

**Adresse :** ENS Lyon, 46 Allée d'Italie 69007 Lyon & Faculté de Médecine de Grenoble, 38706 La Tronche

**Responsable de stage :** Cédric Vaillant & Daniel Jost

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

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** ED 52 "PHAST "

**Profil recherché:** Physique statistique, simulations numériques, biologie computationnelle.

**Possibilité de poursuite en thèse :** Oui

**Financement envisagé :** Ecole Doctorale

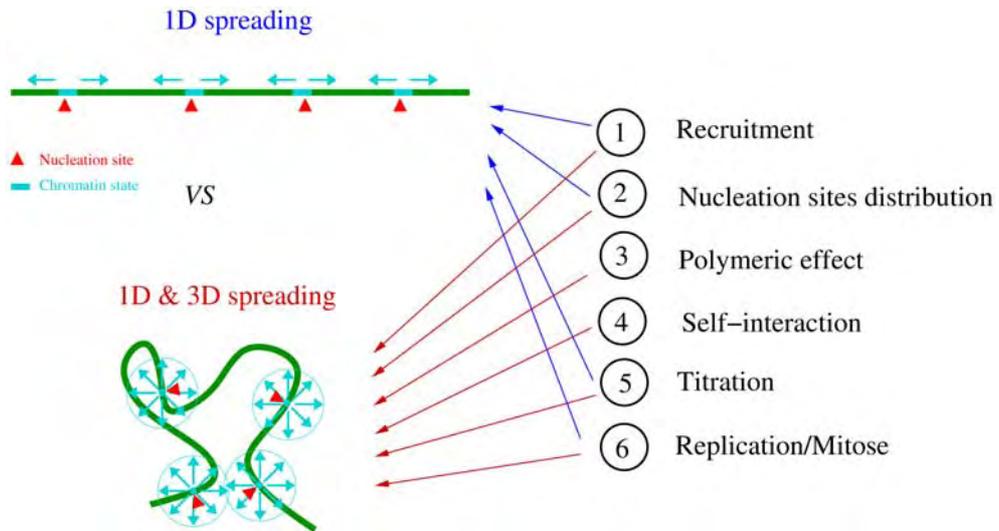
**Titre du stage :**

***Epigenetics in 3D: The "living chromatin" model.  
Application to the establishment and maintenance of dosage compensation.***

## Résumé :

Cellular differentiation occurs during the development of multicellular organisms and leads to the formation of many different tissues where gene expression is modulated without modification of the genetic information [1]. These modulations are in part encoded by chromatin-associated proteins or biochemical tags that are set down at the chromatin level directly on DNA or on histone tails. These markers are directly or indirectly involved in the local organization and structure of the chromatin fiber, and therefore may modulate the accessibility of DNA to transcription factors or enzymatic complexes, playing a fundamental role in the transcriptional regulation of gene expression. Statistical analysis of the repartition of this epigenomic information along the chromosomes have shown that genomes of higher eukaryotes are linearly partitioned into domains of functionally distinct chromatin states [2,3]. In particular, experimental evidence has shown that the pattern of chromatin markers along chromosomes is strongly correlated with the 3D chromatin organization inside the nucleus [4,5]. This suggests a coupling between epigenomic information and large-scale chromatin structure. Recently, using polymer physics and numerical simulations, we showed that attractive interactions between loci of the same chromatin state might be the driving forces of the folding of chromatin inside the nucleus [6]. In this study, we assumed that the epigenomic information pre-exists to the 3D organization. However, increasing number of experimental results suggests that chromatin marks are themselves highly dynamic during cell cycle or developmental stages and that 3D organization of chromatin might play a key role in the stabilization and function of chromatin markers [7].

In this project, we aim to better understand this crosstalk between the epigenome and the 3D organization by introducing an original theoretical framework, the so-called the "living chromatin model" (LC model) where the dynamics of chromatin markers deposition along chromosomes will be coupled to the 3D folding of the chromatin fiber. In that respect, the phenomenon of Dosage Compensation (DC) of sexual X chromosomes [9] provides a very attractive and promising system for applying this framework. In the worm *C. elegans*, DC in hermaphrodites is performed by downregulating transcription of the two X chromosomes; this chromosomal reduction of transcription is achieved via the deposition of chromatin markers, and in particular the Dosage Compensation Complex (DCC). DCC proteins are primarily recruited at given genomic sites and then spread all along the chromosomes [10]. DCC loading is furthermore accompanied by an increase of chromosome X compaction. Previously, in collaboration with the experimental group of P. Meister in Bern we have studied how DCC might enhance compaction of the X chromosomes [11]. The objective of this stage and the thesis will be now to provide a quantitative description of the establishment and maintenance of DC in *C. elegans*. In particular, we aim to use the LC model to investigate the 3D spreading of DCC and its coupling to chromatin organization (see Figure). Based on our previous works [6,12], the student will have to develop the general formalism of the LC model. After analysis of the generic model properties on toy examples, in close collaboration with the Meister's group, he/she will apply the LC formalism specifically to DC in worms. In particular, he/she would have the opportunity to visit the Meister's group in Bern to learn and perform cell-imaging techniques in the context of DC. Applications of the LC model to other epigenetic-related processes like DC in mammals or heterochromatin formation in yeast will be treated during the course of the PhD thesis.



References:

1. C.D. Allis, T. Jenuwein, and D. Reinberg (2007) Epigenetics. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
2. G.J. Filion, et al. Cell 143, 212–224 (2010).
3. J. Ernst, et al. Nature 473, 43–49 (2011).
4. T. Sexton, et al. Cell 148, 458–472 (2012).
5. J.R. Dixon, et al. Nature 485, 376–380 (2012).
6. D. Jost, P. Carrivain, G. Cavalli, C. Vaillant. Nucleic Acids Res. 42, 9553-9561 (2014).
7. G. Cavalli and T. Misteli. Nat Struct Mol Biol 20, 290-9 (2013).
8. J.M. Engreitz et al. Science 341, (2013).
9. F. Ferrari et al. Nat. Struct. Mol. Biol. 21, 118-123 (2014)
10. S. Strome et al. Cold Spring Harb Perspect Biol (2014).
11. R. Sharma et al. Gene & Dev. In revision (2014).
12. D. Jost. Phys. Rev. E 89, 010701 (2014).

## PROPOSITION DE STAGE + THÈSE

**Laboratoire :** Laboratoire de Physique de l'ENS de Lyon & Laboratoire TIMC-IMAG (Grenoble)

**Adresse :** ENS Lyon, 46 Allée d'Italie, 69364 Lyon & Faculté de Médecine de Grenoble, 38706 La Tronche.

**Responsable :** Cédric Vaillant, CNRS, & Daniel Jost, CNRS

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

**N° et intitulé des écoles Doctorales de rattachement envisagées :** ED 52 – Physique et d'Astrophysique de Lyon (PHAST)

**Financement envisagé :** Ecole Doctorale

**Profil recherché :** Physique statistique, simulations numériques, biologie computationnelle.

**Possibilité de poursuite en thèse :** Oui

### RÉGULATION EPIGÉNÉTIQUE DE L'HÉTÉROCHROMATINE : MODÈLES MOLÉCULAIRES

L'ADN chromosomique des cellules eucaryotes est fortement condensé au sein d'un complexe nucléoprotéique, la chromatine. Le premier niveau de compaction, le nucléosome, correspond à un enroulement de 146 paires de bases autour d'un octamère d'histone. L'arrangement linéaire de ces nucléosomes le long de la chaîne ADN forme le chapelet nucléosomal ou "fibre de 10 nm". Par ailleurs que ce soit au niveau de l'ADN, avec la méthylation, ou au niveau des histones, avec les modifications covalentes des queues ou l'insertion de variants, la chromatine se caractérise localement par une signature biochimique. Or, ces marqueurs biochimiques sont impliqués soit directement dans la structuration de la fibre (par exemple en modulant la stabilité des nucléosomes, ou l'interaction entre nucléosomes..) soit dans le recrutement de facteurs auxiliaires régulateurs de la chromatine comme les facteurs de remodelage. Il apparaît ainsi que la composition biochimique de la chromatine, en modulant l'accessibilité des différents complexes enzymatiques à leurs sites nucléiques joue un rôle fondamental dans la régulation du programme transcriptionnel (quels genes actifs et quand?) des cellules : à temps court, dans le cas de la réponse au stress et à temps long, dans le cas de la spécification et maintenance (hérédité) d'un type cellulaire au cours du développement ou lors de maladie comme le cancer. On parle alors de régulation "épigénétique" car celle-ci induit des changements (réversibles) de phénotypes cellulaires stables et héréditaires sans modification du génome.

Les chromosomes eucaryotes sont ainsi composés de plusieurs types de domaines épigénétiques structuraux & fonctionnels chromatiniens qui compartimentent le génome. On distingue généralement l'*euchromatine*, ouverte et généralement accessible, où l'on retrouve la plupart des genes actifs, de l'*hétérochromatine*, fortement condensée, riche en éléments transposables et en séquences répétées et plutôt inactive transcriptionnellement. D'un point de vue fonctionnel, l'hétérochromatine contrôle plusieurs aspects fondamentaux du fonctionnement nucléaire, notamment : (i) assemblage du kinétochore (ii) cohésion des chromatides sœurs assurant ainsi la bonne ségrégation durant la division cellulaire (iii) la recombinaison : inhibition de toute recombinaison inopinée au niveau des séquences répétées garantissant ainsi une stabilité génomique (iv) l'expression des genes : répression de la transcription des séquences sous-jacentes et voisines (v) l'activation/repression de certaines interactions à longue distance impliquées notamment dans la régulation du développement. L'hétérochromatine est en effet associée à la différenciation cellulaire, même dans les organismes unicellulaires ou elle contrôle le type cellulaire et la reproduction sexuée. Dans les organismes multicellulaires l'hétérochromatine est impliquée dans la maintenance de l'identité cellulaire au cours du développement. Malgré son importance, les mécanismes de formation et de maintenance (hérédité), et la manière dont ce type de chromatine exécute ces différentes fonctions restent encore mal connus. A l'échelle de l'ADN et du nucléosome l'hétérochromatine se caractérise par des signatures biochimiques et structurales spécifiques : la méthylation de l'ADN, l'hypo-acétylation des histones, la méthylation spécifique H3K9me, l'association avec des protéines structurales de la famille HP1 et par une distribution des nucléosomes très périodique. Le scénario actuellement proposé pour l'assemblage hétérochromatinien repose ainsi sur un mécanisme de recrutement et d'action combinées d'enzymes et de protéines structurales conduisant à une structure de la fibre, stable, compacte et faiblement accessible. A partir de sites de nucléation, l'"état" hétérochromatinien se propage le long de la fibre jusqu'à atteindre des zones "frontière" et former ainsi un domaine épigénétique stable.

En collaboration avec des groupes de biologistes expérimentateurs, l'objectif est de développer des modèles moléculaires de régulation de l'hétérochromatine et de la répression transcriptionnelle qu'elle induit (Figure 1). *S. pombe* est un organisme de choix pour une telle étude puisqu'il présente des modes d'assemblage hétérochromatinien qu'on retrouve en grande partie dans les organismes multicellulaires [1]. La taille réduite du génome et la possibilité de tester "assez facilement" expérimentalement certaines hypothèses par le biais de mutants rend cet organisme extrêmement attractif pour aborder une telle étude théorique. On étudiera ainsi les propriétés d'équilibre (diagrammes de phases, fluctuations) et hors-équilibre (dynamiques de relaxation, de transition). On simulera ainsi les processus de nucléation, de propagation, de maintenance et de transmission mitotique de l'hétérochromatine. On se focalisera sur

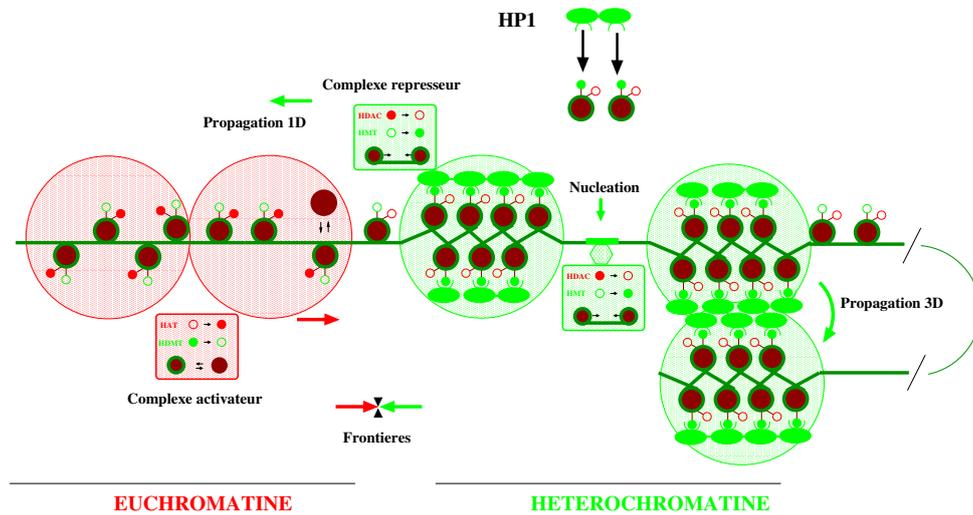


FIGURE 1 – Modèle moléculaire de l'hétérochromatine

certaines régions du génome de *S. pombe* (centromeres, telomeres, locus “Mat”, retrotransposons, genes méiotiques...). On établira des cartes d'hétérochromatinisation au niveau de ces domaines génomiques en fonction des différents paramètres de contrôle des modèles. On comparera notamment les prédiction de densités en nucleosomes, en marques H3K9me1,2,3, en HP1 à celles mesurées expérimentalement par différents groupes [1,2,3,4].

L'étude de ces modèles se fera principalement grâce à des simulations numériques (Matrices de transfert, Monte-Carlo, Dynamiques stochastiques) ; un goût et une connaissance solide de la programmation (en C/C++/Fortran/Python) est souhaitée. Il s'agira également d'analyser par des méthodes classiques de traitement du signal des données épigénétiques expérimentales obtenues dans d'autres laboratoires. L'encadrement se fera au sein d'un groupe de physiciens théoriciens, en interactions forte avec des biologistes.

Références :

- 1- F.E. Reyes-Turcu and S.I. Grewal. *Curr. Opin. Gen. Dev.* **22**, 156-163 (2012).
- 2- Shim et al., *The EMBO Journal* **31**, 4375-4387 (2012).
- 3- J.F. Garcia et al., *Genes Dev.* **24**, 1758-71 (2010).
- 4- Yamanaka et al., *Nature* **493**, 557-560 (2013).

## Research Project Master1/Master2/ PhD



### Laboratoire :

Institut de Minéralogie, de physique de la matière et de cosmochimie  
Equipe Biophysique et Bioinformatique

### Adresse :

IMPMC, UPMC UMR7590 4 Place Jussieu  
tour 22-23 5eme étage  
75252 Paris Cedex 5

### Responsable de stage :

Catherine Vénien-Bryan

### Email :

catherine.venien@impmc.upmc.fr

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

ED515 Complexité du vivant

### Profil recherché:

Biophysicist or Biochemist

### Possibilité de poursuite en thèse :

### Financement envisagé :

### Titre du stage :

**2D crystallisation of membrane protein, on a lipid monolayer**

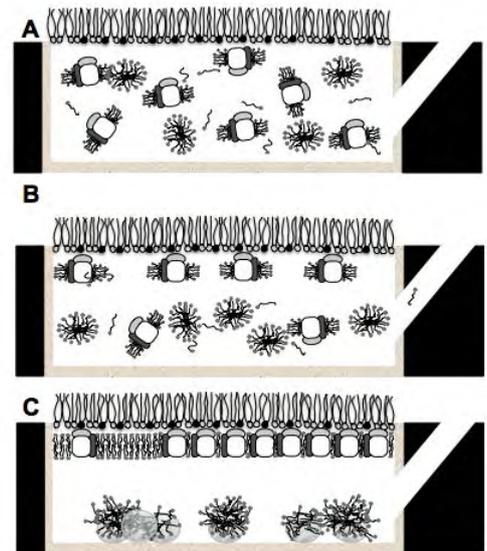
### Résumé :

Inwardly-rectifying potassium (Kir) channels regulate membrane electrical excitability and  $K^+$  transport in many cell types where they control such diverse processes as heart rate, vascular tone, insulin secretion and salt/fluid balance. Their physiological importance is highlighted by the fact that genetically inherited defects in Kir channels are responsible for a wide-range of channelopathies. To elucidate how channel function becomes defective in the disease state requires a detailed understanding of channel structure in both the open and closed states. Recently, for the first time, we reported the structure of a KirBac potassium channel with an open bundle crossing indicating a mechanism of channel gating determined by X-ray crystallography at 3Å resolution. In this model, the rotational twist of the cytoplasmic domain is coupled to opening of the bundle-crossing gate via a network of inter- and intra-subunit interactions [1]. In addition, we have also used EM analysis of 2D crystals of the same Kir channel trapped in an open state and compared these results with the 3D structure.

Intriguingly, the projection maps from the EM experiments suggest a larger opening of the pore in the 2D crystal form compared to that observed in the 3D crystal structure [2]. The organization of these two crystal forms is different and suggests that the 2D crystals may permit stabilisation of an open state structure that is not compatible with 3D crystallisation. These results not only have major implications for our understanding of the open state structure of the Kir channel, but more importantly they demonstrate the general utility and importance of methods such as electron microscopy and 2D crystallography for the study of membrane protein structure.

In order to gain more information on the structure of the potassium channels (wild or mutants) in their physiological environment and the molecular mechanism which allows the channel to open, we propose to pursue our structural study of the channel organized in 2D. The selected student will study the structure of Kirbac from 2D crystals, grown with the technique of lipid monolayer, combined with electron cryo-crystallography [3]. We have recently bought a liquid handling robot that we are customizing for 2D crystallisation of membrane proteins. This development will be done in collaboration with Michel Goldman's team (INSP) who has some expertise in studying Langmuir monolayer at all scales (from thermodynamical to microscopic measurement on liquid and solid substrates)[6].

figure : Method for 2D crystallisation of a membrane protein on a lipid monolayer. (a) Deposition of the lipids which form a monolayer at the air-water interface. Interaction of the membrane protein with the lipid ligand (C) 2D crystallization after removal of detergent



## References

- (1) Bavro et al. *Nature Structural & Molecular Biology* 2012, 19 (2):158-163.
- (2) De Zorzi R et al., *Biophys. J.* 2013 105 :398-408
- (3) Lebeau L et al., *Methods Mol Biol.* 2013;955:59-71 2013
- (4) Fontaine P et al. *Langmuir* 2007, 23:12959-12965
- (5) Lepere, M et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **48** (2009) 5005–5009
- (6) Cantin S et al. *Langmuir* 28, 11046–11054 (2013)

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire: LIPHY

Adresse : 140 rue de la Physique, BP53, 38041 GRENOBLE

Responsable de stage : Claude VERDIER

Email : [claud.verdier@ujf-grenoble.fr](mailto:claud.verdier@ujf-grenoble.fr)

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : IMEP-2 (Ingénierie Matériaux Mécanique Energétique Environnement Procédés Production)

Profil recherché: Biomécanique

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : allocation CNRS ~ 500€/mois

Titre du stage : Transmigration de cellules cancéreuses à travers l'endothélium

Résumé :

La compréhension de la transmigration de cellules cancéreuses au travers de l'endothélium (Fig. 1) fait appel à deux notions importantes :

- la capacité des cellules cancéreuses à adhérer sur l'endothélium
- la déformabilité des cellules cancéreuses pour se faufiler au niveau des jonctions intercellulaires de l'endothélium

Pour étudier ces phénomènes, nous caractérisons par AFM les **forces d'interaction**, ce qui permet d'identifier les récepteurs et les ligands présents à la surface des cellules [1]. Nous mesurons de plus les propriétés **micro-rhéologiques** des cellules par indentation dynamique.

Ensuite, au moyen de mono-couches de cellules endothéliales adhérentes sur un gel, nous mettons en contact des cellules cancéreuses et étudierons les forces qu'elles développent au passage de l'endothélium, grâce à la méthode dite TFM (**Traction Force Microscopy**). L'objectif sera de mettre en évidence les mécanismes utilisés par les cellules cancéreuses pour traverser la barrière endothéliale et migrer dans le gel sous-jacent. Les modifications dans l'organisation du cytosquelette seront étudiées en parallèle.

Ce travail utilisera des lignées cellulaires +/- invasives déjà caractérisées par TFM [3].

**Collaboration** : Alain Duperray (Institut Albert Bonniot, équipe 8)

**Contexte** : ANR "Transmig", 2013-2016

**Références:**

[1] V.M. Laurent, A. Duperray, V. Sundar Rajan, C. Verdier, Evidence of the role of ICAM-1 on cell invasiveness through AFM measurements of the interaction between tumor cells and endothelial cells, *PLOS One*, **9**(5), e98034 (2014)

[2] Y. Abidine, V.M. Laurent, R. Michel, A. Duperray, C. Verdier, Microrheology of complex systems and living cells using AFM, *Comput. Methods Biomech. Biomed. Eng.*, **16**, 15-16 (2013)

[3] V. Peschetola, V.M. Laurent, A. Duperray, R. Michel, D. Ambrosi, L. Preziosi, C. Verdier, Time-dependent traction force microscopy for cancer cells as a measure of invasiveness, *Cytoskeleton*, **70**, 201-214 (2013)

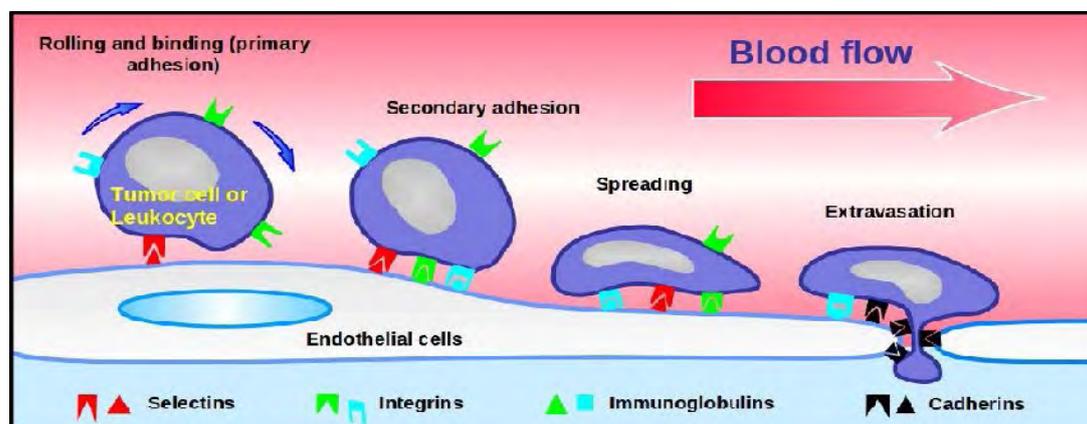


Fig. 1  
Etapas du processus de transmigration des cellules cancéreuses

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

**Laboratoire :** Équipe Évolution et développement des métazoaires, Institut Jacques Monod

**Adresse :** 15 rue Hélène Brion, 75205 Paris cedex 13

**Responsable de stage :** Pr. Michel Vervoort / Pierre Kerner

**Email :** kerner@ijm.univ-paris-diderot.fr

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement :** ED157 - BioSPC

**Profil recherché :** -

**Possibilité de poursuite en thèse :** oui

**Financement envisagé :** concours école doctorale

**Titre du stage :** Atlas cartographique d'expression génétique durant le développement de l'annélide *Platynereis dumerilii*

### Résumé :

The question of evolutionary homology of certain organs or embryonic structures among organisms is often marred by the absence of in-depth molecular and cellular characterization of these structures. This either leads to assume homologous relationships of structures that were acquired independently during evolution, or to overlook the deep-homology of structures that accumulated enough changes so that their relationship remains cryptic when comparing their superficial features.

In our laboratory, we study the genes involved during the development and establishment of different structures in the marine annelid worm *Platynereis dumerilii*. This worm belongs to a poorly explored lineage called lophotrochozoans which is distinct to the lineage of both vertebrates and arthropods. The molecular and cellular characterization of the structures found in *Platynereis* offers thus a unique phylogenetic vantage point for comparisons with arthropods and vertebrates. Furthermore, the genomic studies in *Platynereis* are more relevant in an evolutionary scope as it has sustained less modification than the fast-evolving lineages of the fruit flies or the nematode worms<sup>1</sup>. These advantages, coupled with breeding amenabilities, have turned *Platynereis* an original and valuable model organism for evolutionary developmental studies<sup>2</sup>. Hence, work in our laboratory has contributed to the elucidation of the evolutionary history of some features found in animals, such as the organization of the nervous system<sup>3</sup>, the segmentation of the body<sup>4</sup> or the behavior of stem cells<sup>5</sup>.

Most of these studies used the characterization during development of the expression patterns of candidate genes by Whole Mount RNA *in situ* Hybridization (WMISH) to compare the involvement of these genes in the formation of structures found in different animals. These expression patterns can be studied on a cellular resolution by using a confocal reflection microscopy technique that exploits the reflective properties of the NBT/BCIP (nitroblue tetrazolium/5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate) staining precipitates<sup>6</sup>. By using a unique technique developed for *Platynereis*, it is now possible, using image registration, to superpose the WMISH data of several genes on a virtual reference embryonic stage, allowing therefore the visualization of overlapping or mutually exclusive domains of expression of these genes<sup>7</sup>. This opens the possibility to generate an atlas of expression domains among the different structures of the worm embryo, down to a cellular resolution.

Our main focus for this project will be to generate an expression atlas of the development of the anterior part of the gut of *Platynereis*. Our laboratory has indeed found that many important transcription factors and components of signaling pathways are expressed in different subsets of this structure. Our current data suggest that the anterior *Platynereis*' gut contains endocrine cells. The cellular and molecular profiling of these cells during development will help clarify the homologous relationship of these cells and the vertebrate's endocrine cells found within the gut epithelium and in specialized endocrine glands (such as the thyroid and the pancreatic islets).

1. Raible F, Tessmar-Raible K, Osoegawa K, Wincker P, Jubin C, Balavoine G, *et al.* Vertebrate-type intron-rich genes in the marine annelid *Platynereis dumerilii*. *Science* 2005, **310**(5752): 1325-1326.
2. Fischer A, Dorresteijn A. The polychaete *Platynereis dumerilii* (Annelida): a laboratory animal with spiralian cleavage, lifelong segment proliferation and a mixed benthic/pelagic life cycle. *Bioessays* 2004, **26**(3): 314-325.
3. Demilly A, Steinmetz P, Gazave E, Marchand L, Vervoort M. Involvement of the Wnt/beta-catenin pathway in neurectoderm architecture in *Platynereis dumerilii*. *Nature communications* 2013, **4**: 1915.
4. Dray N, Tessmar-Raible K, Le Gouar M, Vibert L, Christodoulou F, Schipany K, *et al.* Hedgehog signaling regulates segment formation in the annelid *Platynereis*. *Science* 2010, **329**(5989): 339-342.
5. Gazave E, Behague J, Laplane L, Guillou A, Preau L, Demilly A, *et al.* Posterior elongation in the annelid *Platynereis dumerilii* involves stem cells molecularly related to primordial germ cells. *Dev Biol* 2013, **382**(1): 246-267.
6. Jekely G, Arendt D. Cellular resolution expression profiling using confocal detection of NBT/BCIP precipitate by reflection microscopy. *Biotechniques* 2007, **42**(6): 751-755.
7. Tomer R, Denes AS, Tessmar-Raible K, Arendt D. Profiling by image registration reveals common origin of annelid mushroom bodies and vertebrate pallium. *Cell* 2010, **142**(5): 800-809.

5 publications récentes de l'équipe :

Gazave E, Behague J, Laplane L, Guillou A, Preau L, Demilly A, Balavoine G, Vervoort M: **Posterior elongation in the annelid *Platynereis dumerilii* involves stem cells molecularly related to primordial germ cells.** *Dev Biol* 2013, 382(1):246-267.

Demilly A, Steinmetz P, Gazave E, Marchand L, Vervoort M: **Involvement of the Wnt/beta-catenin pathway in neurectoderm architecture in *Platynereis dumerilii*.** *Nature communications* 2013, 4:1915.

Kerner P, Degnan SM, Marchand L, Degnan BM, Vervoort M: **Evolution of RNA-binding proteins in animals: insights from genome-wide analysis in the sponge *Amphimedon queenslandica*.** *Mol Biol Evol* 2011.

Demilly A, Simionato E, Ohayon D, Kerner P, Garces A, Vervoort M: **Coe genes are expressed in differentiating neurons in the central nervous system of protostomes.** *PLoS ONE* 2011, 6(6):e21213.

Dray N, Tessmar-Raible K, Le Gouar M, Vibert L, Christodoulou F, Schipany K, Guillou A, Zantke J, Snyman H, Behague J *et al.*: **Hedgehog signaling regulates segment formation in the annelid *Platynereis*.** *Science* 2010, 329(5989):339-342.

# « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Centre interdisciplinaires des Nanosciences de Marseille

Adresse : 163 avenue de Luminy, 13009 Marseille

Responsable de stage : Annie Viallat

Email : annie.viallat@inserm.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : Physique et sciences de la matière, ED352

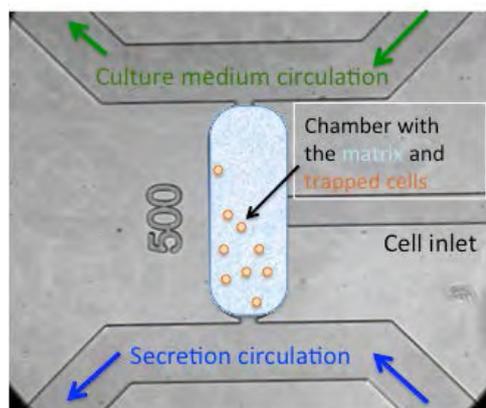
Profil recherché : Physicien, médecin ou biologiste

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : Ecole Doctorale

Titre du stage : Migration 3D de phagocytes

**Résumé :** La migration de certaines cellules immunitaires (macrophages, cellules dendritiques) dans les tissus est un phénomène majeur lors d'une inflammation. La migration dans les tissus est tridimensionnelle et très différente de la migration 2D sur des surfaces. Le stage concerne l'étude in-vitro de la migration de macrophages et neutrophiles dans des matrices 3D mimant la matrice extracellulaire en présence d'un chimio-attractant.



Un petit dispositif microfluidique est mis au point au laboratoire pour imposer un gradient contrôlé de chimio-attractant tout en visualisant les cellules au sein de structures de collagène et en enregistrant leur mouvement.

Suivant l'intérêt du stagiaire, on pourra soit 1) appliquer l'étude à la migration de macrophages pendant une infection parasitaire : étude en direct de l'infection de macrophages par des leishmanies et de la migration des macrophages infectés (contenant des parasites) et non infectés sous l'effet d'un chimio-attractant. La migration est-elle affectée par l'infection? Cette application sera menée en collaboration avec un groupe de médecins au Brésil, soit 2) appliquer l'étude à une maladie chronique respiratoire, l'asthme

sévère, qui est associée à une anomalie de l'épithélium bronchique. On étudiera comment les médiateurs sécrétés par l'épithélium asthmatique favorisent le recrutement, l'activation et la survie des cellules dendritiques, impliquées dans la réponse à l'agression épithéliale. On travaillera sur des cellules dendritiques (issues de patients sains ou asthmatiques) dans des structures de collagène mimant les espaces sous épithéliaux. Les structures de collagène seront variées pour comprendre l'effet d'un remodelage des espaces sous-épithéliaux (observé dans l'asthme sévère) sur la migration. Ce travail sera fait en collaboration avec l'équipe du Prof. Chanez, pneumologue, au sein d'un projet ANR.

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : *Laboratoire d'Optique et Biosciences*

Adresse : *École Polytechnique, 91120 Palaiseau*

Responsable de stage : *Marten VOS*

Email : *marten.vos@polytechnique.edu*

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : *INTERFACES (à partir de 2015)*

Profil recherché : *formation physique ou physico-chimie avec intérêt pour biophysique moléculaire*

Possibilité de poursuite en thèse : *oui*

Financement envisagé : *bourse ED*

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 femtoseconde pour visualiser ces mouvements. En particulier, le transfert d'électron entre des acides aminés aromatiques et des flavines photo-excitées, dont la vitesse est extrêmement sensible à la distance, sera exploité. Nous avons démontré récemment que les mouvements dans des enzymes extrêmement flexibles 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 la caractérisation moléculaire des mouvements et le rôle dynamique d'inhibiteurs dans ThyX, un enzyme dont le site actif contient une flavine et qui joue un rôle essentiel dans la synthèse d'ADN bactérienne. Ce projet interdisciplinaire associe la spectroscopie femtoseconde (de fluorescence et d'absorption, en utilisant des montages existants), la mutagénèse dirigée, et la simulation de la dynamique moléculaire. Un encadrement à la fois pour les aspects spectroscopiques et pour les aspects de biochimie est prévu. Le projet de thèse associé inclut le développement de nouvelles méthodes spectroscopiques visant à caractériser la dynamique moléculaire pendant des intermédiaires de la réaction catalytique.

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:**

**Ecole Normale Supérieure, Département de Chimie  
UMR 8640 CNRS-ENS-UPMC, Pôle Chimie Biophysique**

**Adresse : 24 rue Lhomond, 75005 Paris et 1, rue Maurice Arnoux, Montrouge**

**Responsable de stage : Drazen Zanchi**

**Email : zanchi@ens.fr**

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED 388**

**Profil recherché: formation en physique ou physicochimie**

**Possibilité de poursuite en thèse : non**

**Financement envisagé : oui**

**Titre du stage : Association contrôlée des protéines en solution alimentaire**

**Résumé :**

**Auto-association de protéines est un vaste sujet motivé par un grand nombre de cas pertinents de point de vue de la santé et prévention (maladie de Alzheimer, prionophies, Huntington etc.), de la thérapeutique (en particulier du cancer), de la science de nouveaux matériaux, des sciences agro-alimentaires etc.**

**Dans certain cas nous voulons éviter l'agrégation afin de garder la protéine dans son état actif, alors que les agrégats peuvent être nocifs (ex. prion). Dans d'autres cas nous voulons contrôler les agrégats, afin d'empêcher leur croissance excessive, tout en les gardant en suspension (ex. le lait). Dans encore d'autres situations nous voulons produire les agrégats possédant une structure bien précise (micro-tubules, fibrils, capsides).**

**Notre groupe (dir. Christophe Tribet) a une reconnaissance internationale pour travaux sur le contrôle d'agrégation de protéines thérapeutiques, membranaires, alimentaires et salivaires. Actuellement, nous participons aux projets sur le contrôle d'agrégation de protéines en solution biocompatible pertinente pour les applications biomédicales et agro-alimentaires. En particulier, nous étudions les structures que certaines protéines sont susceptibles de former sous condition de stress (température, oxydation, cisaillement, présence d'autres macromolécules, composition du solvant, etc.). Les structures d'agrégats et les dynamiques de formation de ces structures sont ensuite confrontées avec les modèles, permettant de comprendre les mécanismes physiques intervenant dans l'agrégation.**

**Le candidat M2 participera dans les expériences visant à identifier les caractéristiques physiques des agrégats de certaines protéines (taille, forme, dimension fractale, vitesse de croissance,..). Nous envisageons l'utilisation de macromolécules biologiques (par ex. polysaccharides) pour contrôler les processus de formation d'agrégats et/ou pour modifier les structures. Nous utiliserons les techniques standard en biophysique de caractérisation de protéines et d'agrégats : diffusion de rayons X en petits angles (SAXS), diffusion dynamique de la lumière (DLS), dichroïsme circulaire (CD)...**

**L'analyse de données SAXS en utilisant les logiciels standard (SASFIT, PRIMUS, ATSAS) fera aussi partie d'apprentissage du candidat. Ainsi, ce stage offre une introduction précieuse aux techniques utilisés systématiquement non pas seulement pour caractérisation de protéines en solution, mais aussi dans l'étude d'autres systèmes de la matière molle, de la physique de (bio-)polymères, des nano-biotechnologies, de la physique des polymères, de la physicochimie supramoléculaire, etc. Il consistera une base solide avec perspectives pour la poursuite d'activité dans la recherche académique ou industrielle, fondamentale ou appliquée (par ex. la recherche dans l'agro-alimentaire, le biomédical, la cosmétique, les nano-biotechnologies, etc.)**

**Le stage se déroulera sous responsabilité de Drazen Zanchi dans les locaux du Pôle de biochimie-physique en étroite collaboration avec les technologues et biochimistes de INRA. L'immersion du candidat au sein du pôle, possédant une forte activité en biologie et biophysique, contribuera à accroître ses connaissances et lui aidera de prendre du recul et de situer sa thématique dans le contexte de la recherche contemporaine.**

## « PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire:

Ecole Normale Supérieure, Département de Chimie  
UMR 8640 CNRS-ENS-UPMC, Pôle Chimie Biophysique

Adresse : 24 rue Lhomond, 75005 Paris et 1, rue Maurice Arnoux, Montrouge

Responsable de stage : Drazen Zanchi

Email : zanchi@ens.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED 388

Profil recherché: formation en physique ou physicochimie, gout pour calcul et théorie

Possibilité de poursuite en thèse : non

Financement envisagé : oui

Titre du stage : Mouvement brownien rotationnel des colloïdes « *patchy* »

Résumé :

Un colloïde *patchy* est une particule (souvent de synthèse) suffisamment petite pour obéir aux lois de diffusion en solution et possédant une forte anisotropie d'interaction. La problématique de contrôle de la dynamique de colloïdes *patchy* fait partie des défis actuels de la recherche pluridisciplinaire fondamentale (physique, chimie, biologie) et appliqué (bio-médecine, nanotechnologies, sciences des matériaux...). Depuis quelques années l'intérêt de la communauté scientifique et industrielle pour ces objets ne fait que croître et les méthodes d'élaboration de ces colloïdes se multiplient dans une course « qui fera le mieux et le moins cher ».

Dans le Pôle de biochimie-physique de l'ENS (dir. Christophe Tribet) et précisément dans le cadre d'un projet soutenu par l' ANR, nous explorons les façons d'élaborer les particules *patchy* et de contrôler leur auto-association et leurs propriétés d'adsorption sur des substrats particuliers. La collaboration est pluridisciplinaire faisant intervenir physico-chimie, chimie, et physique, ainsi que les aspects physique théorique.

Nous proposons un stage M2 à un candidat hautement motivé pour une aventure réellement pluridisciplinaire. Le cœur du stage sera la simulation de mouvement et d'association de ces colloïdes et la confrontation des résultats avec les données expérimentales obtenues en parallèle dans notre groupe. Le but final serait d'avoir un contrôle sur le comportement collectif des colloïdes en fonction de leur condition d'élaboration. Ainsi, le candidat sera amené à apprendre la simulation brownienne à l'ordinateur, mais aussi les bases de la physique et physicochimie de polymères greffés, photo- et thermo- sensibles, les bases de la physique des surfaces etc. Ce stage permettra au candidat d'acquérir une culture transversale, lui donnant des atouts pour un vaste éventail de sujets futurs fondamentaux (matière molle, polymères, assemblages et agrégation) et appliqués (nouveaux matériaux hybrides et fonctionnels, recherche biomédicale, cosmétique, nano-biotechnologies, etc.).

Le stage se déroulera sous responsabilité de Drazen Zanchi dans les locaux du Pôle de Chimie-biophysique en étroite collaboration avec les expérimentateurs travaillant sur le projet « colloïdes *patchy* ». L'immersion du candidat au sein du pôle, possédant une forte activité en biologie et biophysique, contribuera à accroître ses connaissances et lui aidera de prendre du recul et de situer sa thématique dans le contexte de la recherche contemporaine.