

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire: Institut Pasteur - Unité Zebrafish Neurogenetics
(actuellement à l'Institut NeuroPSI, Gif-sur-Yvette, avec déménagement à l'Institut Pasteur au cours de l'été 2016)

Adresse : Actuelle : Laboratoire de Neurosciences Paris-Saclay (NeuroPSI), CNRS UMR9197, Avenue de la Terrasse, 91190 Gif-sur-Yvette ; > 08/16 : Department of Developmental Biology and Stem Cells, Bat. Jacques Monod, 25-28 rue du Docteur Roux. 75015. Paris.

Responsable de stage : Laure Bally-Cuif (DR, CNRS) et Nicolas Dray (CR, CNRS)

Email : bally-cuif@inaf.cnrs-gif.fr and nicolas.dray@inaf.cnrs-gif.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : Frontières du vivant (FdV)

Profil recherché: physicien expérimentateur et/ou théoricien, biophysicien

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : Bourse de l'ED ou Labex Revive

Titre du stage : Méchanobiologie des cellules souches neurales adultes chez les vertébrés

Résumé :

Ce projet de stage puis de thèse propose de mesurer et comprendre le rôle des forces mécaniques dans le contrôle de l'activation des cellules souches neurales du cerveau adulte chez les vertébrés, et comment ces régulations sont intégrées à l'échelle d'un tissu.

Les cellules souches neurales adultes sont la plupart du temps quiescentes, mais, sous le contrôle de différents stimuli physiologiques, peuvent être activées, c'est-à-dire rentrer en cycle, pour se diviser et générer de nouveaux neurones. Notre équipe s'intéresse aux mécanismes contrôlant l'équilibre quiescence/activation, équilibre fondamental au maintien des populations souches sur une longue durée mais qui reste très mal compris à l'échelle moléculaire. Nous utilisons le télencéphale de zebrafish, un modèle simple avec des caractéristiques uniques¹ permettant l'étude des cellules souches neurales in vivo, dans leur environnement normal.

Nous testerons d'abord le rôle des forces mécaniques dans le contrôle de l'équilibre quiescence/activation en corrélant pattern d'activation et inférence globale de force à l'échelle du tissu. Nous développerons aussi des approches permettant de perturber l'environnement local par des ablations ou des coupures laser puis, nous mesurerons l'activation des événements d'activation. Nous chercherons également à déterminer quels facteurs moléculaires transduisent ces signaux mécaniques par profiling et mise au point d'un système de culture cellulaire de ces cellules souches sur substrats synthétiques.

Ce travail impliquera la mise en place de techniques de microscopie de pointe en collaboration avec le Laboratoire d'Optique et Biosciences de l'Ecole Polytechnique (Emmanuel Beaurepaire), d'analyse de pattern avec l'équipe de Yohanns Bellaïche à l'institut Curie et de culture cellulaire contrôlée avec l'équipe de Benoit Ladoux à l'Institut Jacques Monod.

Référence :

[1] Dray et al., Development, 2015.

Site Web : <http://neuro-psi.cnrs.fr/spip.php?article96>

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU THÈSE »

Laboratoire : LadHyX (École Polytechnique) et Génomes et Génétiques (Institut Pasteur)

Adresse : Palaiseau et Paris

Responsable de stage : Charles BAROUD

Email : baroud@ladhyx.polytechnique.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED« Interfaces », Polytechnique

Profil recherché : Pluridisciplinaire. Ouverture d'esprit et approche quantitative.

Possibilité de poursuite en thèse : Oui si financement

Financement envisagé : École doctorale

Titre du stage : Microfluidique, biologie, bio-ingénierie

Résumé :

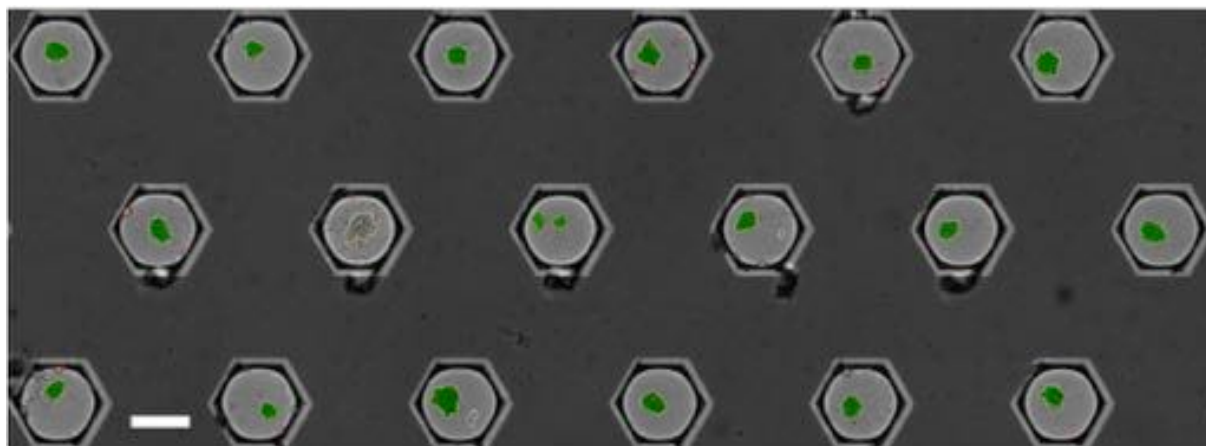
Nous avons développé, dans les années récentes, une boîte à outils ultra-performante de microfluidique pour la production et manipulation de gouttes et bulles. Nous avons aussi appliqué ces outils à l'étude de systèmes biologiques, chimiques, ou physiques. Ces travaux sont très fortement pluri-disciplinaires, et peuvent faire intervenir la physique des fluides, la physico-chimie des gels et des interfaces, la biologie cellulaire, et l'ingénierie.

Plus récemment, nous avons démontré notre capacité à mesurer, en détail, des dizaines de milliers de cultures cellulaires parallèles, dans des conditions finement contrôlées (voir photo). Durant ce stage, nous appliquerons certaines de ces techniques à l'étude de l'évolution de cellules souches sous différentes contraintes mécaniques.

Le challenge à moyen terme sera de pouvoir implémenter 10,000 conditions différentes, afin d'explorer un grand nombre de paramètres de façon combinatoire. Afin de réussir à lever ce verrou, nous devons inventer de nouvelles approches qui combinent des sciences complémentaires : les fluides et la biologie, mais aussi la chimie et les maths (pour l'analyse).

Le projet se déroulera dans la nouvelle équipe de *bio-engineering*, qui est commune à l'École Polytechnique (Palaiseau) et à l'Institut Pasteur (Paris). Le stagiaire travaillera en collaboration étroite avec un post-doctorant et un doctorant du groupe, aussi bien à Paris qu'à Palaiseau.

Pour toute information complémentaire, ou pour candidater, merci de contacter Charles Baroud à l'adresse suivante : baroud@ladhyx.polytechnique.fr.



« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire de cristallographie et RMN biologiques (UMR 8015 CNRS/USPC)

Directeur du laboratoire : Nicolas Leulliot / Carine Tisné

Équipe : Structure des ARN, interactions et anti-infectieux ; **Responsable :** Carine Tisné

Adresse : 4 avenue de l'Observatoire – 75006 PARIS

Responsables de stage : Pierre BARRAUD et Carine TISNÉ

Email : pierre.barraud@parisdescartes.fr ; carine.tisne@parisdescartes.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED MTCI n°563 Médicament, Toxicologie, Chimie, Imageries

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

Possibilité de poursuite en thèse : Oui

Financement envisagé : École doctorale / demande ANR en cours

Titre du stage : Étude structurale d'un signal de localisation nucléaire atypique

Objectifs recherchés : Caractériser les détails moléculaires de l'interaction entre un récepteur d'import nucléaire et un signal de localisation nucléaire atypique en utilisant une combinaison de méthodes biophysiques et structurales.

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

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

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

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

Publications pertinentes de l'équipe :

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

The project: The mechanisms and function of nuclear scaling.

The team: Baum (CRICK/UCL) and Piel (Curie/ESPGG) labs.

Abstract: It has long been recognised that nuclei tend to scale with cell size across eukaryotes.

However, the mechanism by which this has achieved and its function remain unknown. Interestingly, few have considered how this works in animals, where the nuclear/cytoplasmic compartment become permeabilised upon entry into mitosis and re-established upon entry into G1. In this project the student will use confinement to force cells to undergo asymmetric divisions, and will use live cell imaging to study the re-establishment of nuclear size in the bigger and smaller nuclei - each of which both has the same DNA content. Conversely, nuclear size re-scaling will be tested when cells of different sizes are forced to fuse.

The student will then establish the role of the nuclear lamina in the regulation of nuclear size in the two cells.

Finally, these ideas will be tested in the developing fly during asymmetric stem cell divisions in the notum and in cell-cell fusions in the developing musculature.

Techniques: The project will combine live cell imaging, microfabrication, image analysis, developmental genetics and some simple modelling, with the aid of a theorist.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Unité de Microbiologie Structurale, Institut Pasteur

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

Directeur du laboratoire : Pedro M. Alzari

Équipe de recherche (si pertinent) : Biologie structurale d'enzymes et complexes métaboliques

Responsable de l'équipe : Marco Bellinzoni

Responsable de stage : Marco Bellinzoni

Adresse électronique : marco.bellinzoni@pasteur.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED436/MTCI

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

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Si oui, financement envisagé : Contrat doctoral (allocation du ministère)

Titre du stage : Interactions protéine/protéine et reconstitution *in vitro* d'un supercomplexe métabolique de *Corynebacterium glutamicum*

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. Bien qu'il soit connu depuis 80 ans, des aspects restent à dénicher, notamment en ce qui concerne la régulation de certains enzymes ou leur organisation dans le temps et l'espace. Par exemple, selon des hypothèses apparues au cours des années '80, certains (ou peut-être même la plus part) des enzymes du cycle de Krebs pourraient être organisés en clusters, ou complexes multienzymatiques [1,2].

Au laboratoire, en étudiant les voies de signalisation chez *Mycobacterium tuberculosis*, nous nous sommes intéressés à la régulation du croisement entre le cycle de Krebs et le métabolisme de l'azote (via la synthèse du glutamate et de la glutamine), un véritable carrefour métabolique qui se situe au niveau de l'intermédiaire α -ketoglutarate. Ce composé peut en effet donner lieu au glutamate (principalement, chez *Mycobacterium*, via la réaction de la glutamine synthétase) ou être converti, au cours du cycle de Krebs, à succinyl-CoA par l'effet du complexe dit KDH (α -ketoglutarate déshydrogénase). Malgré ce complexe ait été décrit comme absent chez *M. tuberculosis* [3], nous savons maintenant non seulement qu'une activité KDH 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 déshydrogénase. Ce dernier est impliqué dans la décarboxylation oxydative du pyruvate issu de la glycolyse et est structuré de la même façon que KDH, avec trois composants (E1p, E2p et E3) qui sont assemblés autour d'un noyau central fait de 24 ou 60 sous-unités du composant E2p. Par contre, aucun enzyme E2o (du complexe KDH) a été détecté chez *M. tuberculosis* [3,4] et le modèle *Corynebacterium glutamicum* [5], suggérant ainsi l'existence d'un seul supercomplexe hybride PDH/KDH chez les *Corynebacterineae*. Réunir ces deux complexes 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 les interactions protéine-protéine à la base de l'assemblage de ce supercomplexe, en particulier entre l'enzyme E2p (dihydrolipoamide acétyltransférase), qui est censée former le cœur du complexe, et les autres composantes, toutes disponibles comme protéines recombinantes exprimées chez *E. coli*. L'étudiant(e) pourra donc aisément s'intégrer à ce projet, de la production des protéines à l'étude, en collaboration avec la Plateforme de Biophysique Moléculaire de l'Institut Pasteur, de leur assemblage, de leur état d'oligomérisation et de leurs interactions par un éventail de méthodes de biophysique (DLS, MALLS, ultracentrifugation analytique, ITC, Biacore, SAXS).

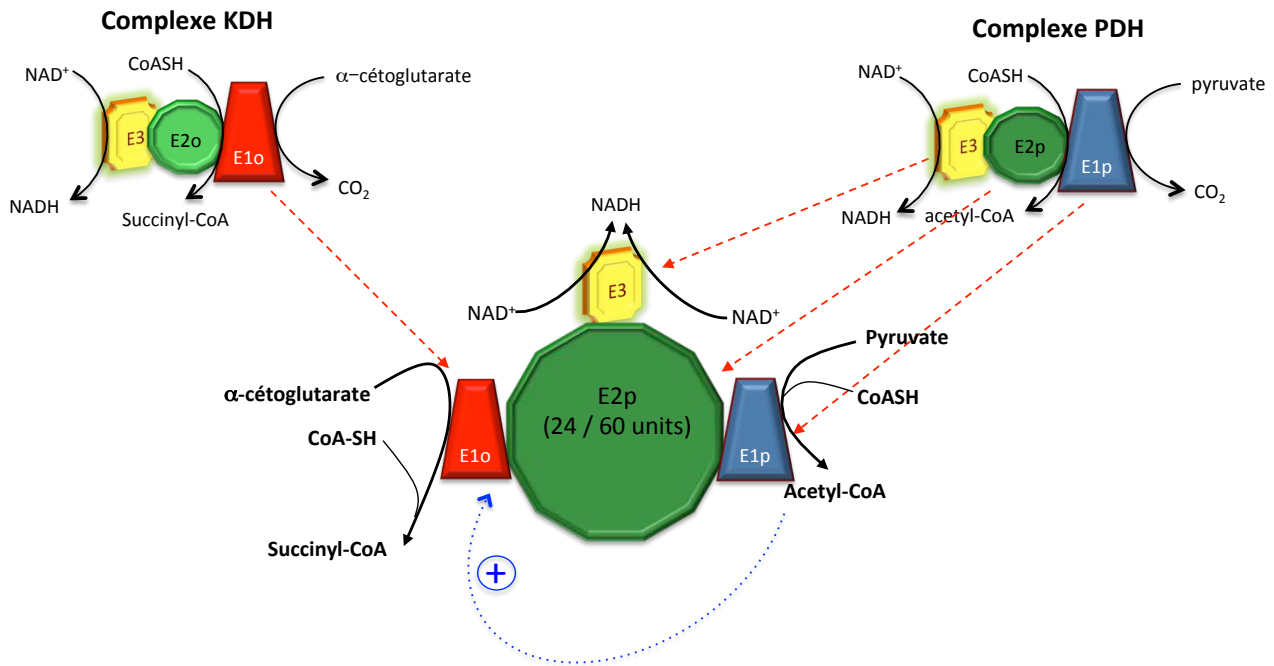


Schéma de la structure de l'hypothétique supercomplexe hybride KDH/PDH chez les *Corynebacterineae* (qui incluent *Mycobacterium*). Les lettres 'o' ou 'p' désignent l'appartenance des enzymes, selon la situation canonique, au complexe PDH ('p') ou au complexe KDH ('o'). Au centre (en vert), le composant E2p avec son domaine acétyltransférase C-terminale qui est censé former le cœur du complexe, avec un état d'oligomérisation (24 ou 60 sous-unités selon les espèces) qui reste à déterminer. E2p pourrait interagir à la fois avec E1p (bleu) et E3 (jaune), avec lequel il catalyse la réaction de la pyruvate déshydrogénase, mais aussi avec E1o (rouge) auquel il fournit le groupement lipoylé nécessaire à la réaction succinyltransférase propre au complexe KDH. A noter, nous avons démontré que l'acétyl-CoA, produit par l'action combinée de E1p et E2p, est un activateur allostérique de E1o [4].

Références

- [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., Shi, S., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., et Nathan, C. (2005) *Mol. Microbiol.* 57: 859-868.
- [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.

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

Frédéric Loosli

Phone: 01 57 27 61 47

Frederic.Loosli@unige.ch

E-mail: 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 8 researchers, composed of 3 PhDs (Fanny Mousseau, Alexandra Ianièce, Chloé Puisney), 3 postdocs (Laure Herrman, Evi Oikonomou, Frédéric Loosli) and 1 permanent position (Jean-François Berret, director of research at the CNRS).

Our research group develops novel functional nanostructures with stimuli-responsive features and biocompatibility. The particles, proteins and 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.

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].

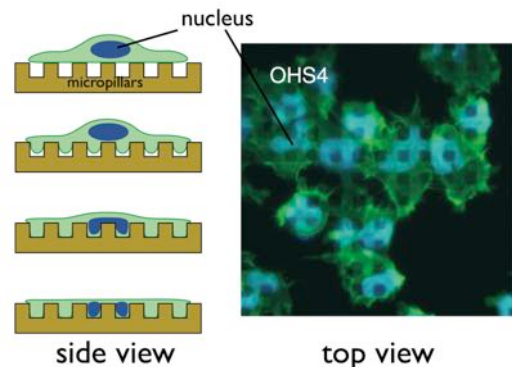


Figure 1: Osteosarcoma cells deform to adapt their environment, here patterned micropillars [1].

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.

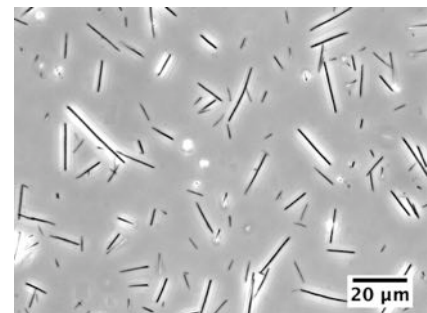


Figure 2 : Optical microscopy image of magnetic nanowires [2]

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

Internship/PhD proposal in Super-resolution

TITLE	3D imaging of nano-objects using interferences. Application to the detection of molecules inside brains.
LABORATORY	Laboratoire Photonique Numérique et Nanosciences (LP2N), Bordeaux, France http://www.lp2n.fr/
DIRECTOR(S)	Pierre Bon & Laurent Cagnet Nanophotonic group: https://sites.google.com/site/bordeauxnanophotonicsgroup/
CONTACT	
e-mail	pierre.bon@institutoptique.fr / Laurent.cagnet@u-bordeaux.fr

Determining the 3D position of an object has become a key point in numerous research fields including biomedical imaging at the nanoscale (detection of pathogen agents inside an organism). While the lateral positioning is straightforward to obtain using a 2D sensor coupled with an imaging device (microscope, camera lens...), it is still challenging to determine the axial position of an object without any knowledge or control of the light coming from the observed scene.

The aim of this internship + PhD (3 years grant already available for this PhD) is the development and the application of a new super-resolution imaging strategy to measure the 3D position of a single emitter by phase imaging. This interferometric technique will not require any *a priori* knowledge about the sample illumination. The performances that we target are to obtain super-resolution imaging that provide the 3D distribution of biomolecules with an *isotropic* sub-diffraction resolution of $\sim 10 \times 10 \times 10 \text{ nm}^3$. The main application will be in the expertise field of our group: to image nanostructures inside biological environments. Moreover this PhD will be oriented toward the detection of pathogen agents or deregulated proteins in pathologies such as Alzheimer or Parkinson disease, in collaboration with neuropathologists of the Bordeaux University.

We are looking for a motivated Master student (or equivalent) in Physics with a good knowledge in optics, programming and willing to strongly interact with biologists in the very competitive and dynamic field of super-resolution imaging. We are seeking for a candidate for an internship wishing to continue to a PhD (3 years grant already available for this PhD).

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Institut de chimie des substances naturelles, UPR2301 du CNRS

Adresse : Centre de recherche de gif-sur-Yvette, 1 avenue de la terrasse, 91190 Gif-sur-Yvette

Directeur du laboratoire : Angela MARINETTI

Équipe de recherche (si pertinent) : Chimie et biologie structurales

Responsable de l'équipe : Eric GUITTET

Responsable de stage : François BONTEMS

Adresse électronique : francois.bontems@cnr.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : Médicament, toxicologie, chimie et imagerie (ED 563)

Profil recherché : Biochimie, biologie structurale

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : Ecole doctorale

Titre du stage : Etude par RMN des états intermédiaires de la protéine de fusion du virus de la Dengue

Résumé :

Le virus de la dengue est transmis à l'homme par différents moustiques, dont *Aedes aegypti* en train de repeupler de très nombreuses régions du globe. La plupart du temps, la dengue présente les symptômes d'une grippe plus ou moins douloureuses mais dans un petit nombre de cas elle s'accompagne d'hémorragies parfois mortelles. On estime que le virus infecte 25 millions de personnes par an, entraînant deux millions d'hospitalisations et trente mille décès. Un point important est qu'il existe quatre variétés (sérotypes) de la dengue. Une infection par l'un des sérotypes entraîne une protection contre une seconde infection par ce même sérotype mais accroît le risque de fièvre hémorragique par un facteur dix dans le cas d'une infection par un autre, compliquant la mise au point de vaccins.

Le virus de la dengue est entouré d'une membrane qui doit fusionner avec la membrane d'un endosome pour lui permettre de pénétrer dans sa cellule cible. Ce processus est catalysé par une glycoprotéine (E) à la surface des virions. Les grandes lignes du mécanisme de la fusion sont bien connues. Sous l'effet d'une baisse de pH dans les endosomes, la protéine E passe d'un état dimérique inactif à un état trimérique actif. Elle subit un changement conformationnel important qui rapproche son extrémité C-terminale, encrée dans la membrane du virion, d'une région très hydrophobe, la boucle de fusion insérée dans la membrane de l'endosome, provoquant ainsi la fusion entre les deux membranes. Les structures des protéines et leur disposition à la surface des virions sont bien connues dans les états pré- et post-fusion. En revanche on sait qu'il existe des états intermédiaires mais très peu de choses sont connues sur eux. Or la caractérisation de ces états est importante, en particulier dans l'optique de bloquer la pénétration du virus dans la cellule. Nous avons entrepris de caractériser par RMN ces états intermédiaires et leur transitions en fonction des changements subis par les virions dans les endosomes (pH, composition et concentration en ion du milieu). La RMN est une technique de choix pour faire ce type d'observation surtout lorsqu'il s'agit d'analyser des mouvements relatifs de domaines (ce qui est le cas ici). Il est en effet possible de suivre les déplacements chimiques pour accéder aux changements d'interface, les couplages dipolaires pour des changements d'orientation, la relaxation pour des changements de mobilité relative ou d'utiliser des agents paramagnétiques dissous pour analyser des changements de surface.

La grande difficulté est que la RMN impose d'enrichir avec des isotopes stables les protéines et que si cela est simple à réaliser dans le cas de protéines produites en bactérie, il n'existait jusqu'à présent aucune solution abordable pour les glycoprotéines qui doivent être produites dans des cellules d'insecte ou de mammifère. Nous avons mis au point au laboratoire une méthode permettant de faire des marquages ponctuels ou uniformes de protéines produites en cellules d'insecte. Nous avons enregistré nos premiers spectres sur différents fragments de la protéine de fusion de la dengue.

La/le candidat/te sera impliqué dans une étude visant à comparer le comportement de la partie soluble d'une

protéine de fusion, de fragments correspondant à différents ensembles de domaines et de mutants stabilisant la forme monomère ou dimère. Les conditions de l'étude seront celles de la transition entre les formes dimère et monomère de la protéine. Nous devrions ainsi être capable de caractériser les conditions du passage du dimère au monomère (une première série de spectres ont été enregistré montrant la faisabilité de cette analyse), les effets dans le monomère, la localisation de ces effets au niveau des différentes charnières entre les domaine de la protéine. Pratiquement, le/la candidat/e fera des cultures de cellules d'insecte pour produire les protéines marquées, participera à la purification de la protéine, enregistrera des expériences de RMN (HSQC essentiellement) et en fera l'analyse. Elle/Il sera aussi impliqué/e dans la réflexion sur la signification des résultats et sur les expériences complémentaires à conduire. Ce travail pourra être étendu, au cours d'une thèse, à d'autre observables RMN, à d'autres techniques (microcalorimétrie, microscopie électronique, marquage résolue dans le temps de la surface des protéines) et à différents sérotype de la dengue de façon à comparer leurs propriétés.

Ce projet fait l'objet d'une collaboration étroite entre l'Unité de virologie structurale à l'Institut Pasteur et le Laboratoire de chimie et biologie structurale à l'ICSN. Le stage de master sera essentiellement réalisé à l'ICSN, encadré par François Bontems (structuraliste) et Nadine Assrir (biologiste cellulaire) mais le candidat sera amené à rencontrer les chercheurs de l'Unité de virologie structurale travaillant sur la Denge.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Institut Jacques Monod – Equipe ‘Mécanotransduction de la surface de la cellule au noyau’

Adresse : 15 rue Hélène Brion, 75205 Paris Cedex 13

Responsable de stage : Nicolas BORGHI

Email : nicolas.borghi@ijm.fr

N° et intitulé de l’Ecole Doctorale de rattachement : BioSPC, FdV

Profil recherché : Physicien et/ou biologiste et/ou Physicochimiste...

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : école doctorale ou fondations (ARC, Ligue, Boehringer)

Titre du stage : Roles of mechanotransduction through E-cadherin and LINC complexes in beta-catenin signaling during epithelial-to mesenchyme transition

Résumé :

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

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

We have developed Molecular Tension Microscopy (MTM) (1), a novel methodology that allows for the first time to quantify mechanical tensions in proteins in live cells, with molecular specificity. Using this tool, the internship topic will address the connections between mechanotransduction through the adhesion protein E-cadherin, the nuclear envelope LINC complex, and of beta-catenin signalization in cell migration, proliferation and epithelial morphogenesis.

(1) Gayrard & Borghi, METHODS (2015) doi:10.1016/j.ymeth.2015.07.010

(2) Bun et al. Biophys J (2014) 107:324-25

(3) Lowndes et al. JCS (2014) 127 :2339-50

(4) Borghi et al. PNAS (2012) 109:12568-73

(5) Borghi et al. PNAS (2010) 107:13324-9

Offre de stage de Master / Master Internship offer

Internship supervisor and Host laboratory:

- Lab: 'Reproduction et développement des plantes' at the ENS de Lyon
- Group: 'Biophysique et développement'
- Supervision: Pradeep Das, Assistant professor at the ENS de Lyon, pradeep.das@ens-lyon.fr, 04.72.72.89.37
- Cosupervision: Sam Collaudin, PhD student, samuel.collaudin@ens-lyon.fr, 06.50.80.47.22

Research project title:

Understanding the cellular-level dynamics of homeotic gene expression during flower development via an interdisciplinary approach

Project description:

The ABC model of floral organ identity determination is now a classical example of how combinatorial gene activities effect patterning during development. In the 25 years since the model was first proposed, the field has come to understand a lot about how the so-called A-, B- and C-class homeotic genes interact with each other, both genetically and molecularly, and how they in turn regulate the expression of specific target genes. However, one aspect that is still poorly understood is exactly how the ABC genes themselves become expressed in very specific spatial domains and at very specific times during flower development.

To address this question, we chose to focus on the expression dynamics of the C class gene, AGAMOUS (AG). It has been shown that AG expression first begins to appear in the centre, but not in the periphery, of 3 day-old flowers. However LEAFY and WUSCHEL, which are the main activators of AG, are present in the flower from day 1, well before the onset of AG expression. Similarly, APETALA2, which plays a key role in repressing AG expression, is also expressed at day 1. To understand how these regulators bring about the precise spatio-temporal regulation of AG, we developed a simple dynamic model based on reaction-diffusion equations that reflected the principal known interactions of these regulators. We also incorporated floral growth during the relevant stages in the model. A mathematical analysis of the model suggested that the auto-activation of AG coupled with the repression by APETALA2 defines a threshold in AG expression. It also suggested that AG diffusion plays an important role in its capacity to be highly expressed in the central dome just after activation.

To validate the different hypotheses output by the model, we generated AG translational reporter lines (figure below) and developed tools to quantify expression at the cell level and describe AG expression in different genotypes. The goal of the internship will be to use these lines and tools to test the model. The student will use available Python scripts but no knowledge in computer sciences is required. According to their progress, the student will feed back on the hypotheses of the model.

Work to perform:

- 3D live-imaging of flower development with fluorescent markers and confocal microscopy
- Image analysis to quantify gene expression in each cells, using available tools
- Statistical analysis to be able to compare gene expression in different genotypes, using available methodology
- Plant culture
- Optional molecular biology experiments to generate new lines
- Comparison between data and model predictions; model improvement could be proposed

Lab publications:

- Fernandez R, Das P, Mirabet V, Moscardi E, Traas J, Verdeil JL, Malandain G, Godin C. 2010. Imaging plant growth in 4D: robust tissue reconstruction and lineaging at cell resolution. *Nat Methods*. 7(7):547-53.
- Rozier F, Mirabet V, Vernoux T, Das P. 2014. Analysis of 3D gene expression patterns in plants using whole-mount RNA in situ hybridization. *Nat Protoc*. 9(10):2464-75.
- Milani P, Mirabet V, Cellier C, Rozier F, Hamant O, Das P, Boudaoud A. 2014. Matching patterns of gene expression to mechanical stiffness at cell resolution through quantitative tandem epifluorescence and nano-indentation. *Plant Physiol*. 165, 1399–1408.

- Das P. 2011. Imaging and modeling growth and morphogenesis in plants. *Curr Opin Genet Dev.* 21(5):606-611.
- Das P, Ito T, Wellmer F, et al. 2009. Floral stem cell termination involves the direct regulation of AGAMOUS by PERIANTHIA. *Development.* 136(10):1605-11.

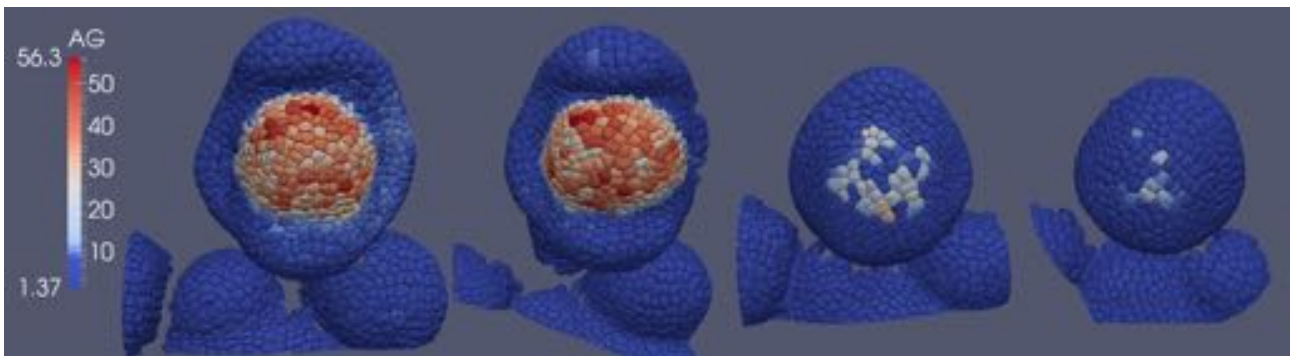


Figure: AG expression quantified at a cellular level in stage 2 and 3 flowers of an AG translational reporter (AG-2xVenus)

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire Optique et Biosciences –CNRS UMR7645 – Inserm U1182

Adresse : Ecole Polytechnique - Palaiseau

Responsable de stage : Cedric BOUZIGUES

Email : cedric.bouzigues@polytechnique.edu

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

Profil recherché : Biophysique/IPB/PMB

Possibilité de poursuite en thèse : Oui

Financement envisagé : Allocation Ministère/IDEX

Titre du stage : Nanoimagerie de la signalisation pathophysiologique oxydante *in vivo*

Résumé :

De nombreuses pathologies humaines sont associées à la production de dérivées réactifs d'oxygène ou ROS (Reactive Oxygen Species). Cela est notamment le cas pour certaines pathologies inflammatoires et neurodégénératives et pour certains cancers. La production de ROS est également impliquée dans la signalisation de nombreux processus cellulaires normaux : la régulation de leur concentration et de leur organisation, aussi bien à l'échelle de l'organisme que de la cellule, est donc essentielle pour le contrôle de la réponse pathophysiologique.

Dans ce contexte, une détection quantitative, résolue dans le temps et l'espace, des ROS permettrait de déchiffrer les mécanismes moléculaires contrôlant une éventuelle transition vers un phénotype pathologique, dans le but d'identifier des cibles thérapeutiques et d'évaluer l'impact de traitements. Il existe cependant aujourd'hui peu de méthodes performantes pour la détection des ROS à l'échelle cellulaire et encore moins *in vivo*.

Nous proposons donc dans ce stage de travailler sur la nanoimagerie de ROS, dans des cellules vivantes et *in vivo*, à l'aide de nanoparticules de terres rares. Nous avons démontré que des nanoparticules luminescentes dopées à l'euprimum ($YVO_4:Eu$), détectées individuellement, sont des capteurs performants pour la détection intracellulaire des ROS^{1,2} et avons développé et breveté ces derniers mois une méthode utilisant un mélange de nanoparticules $YVO_4:Eu/YAG:Ce$ pour une détection rapide à 500 ms de résolution dans une cellule en culture. Le principal objectif du stage sera d'adapter ces méthodes pour la détection de ROS *in vivo*, pour l'analyse de la dynamique d'inflammations et de tumeurs dans un système murin.

Ce travail comportera d'une part un travail de caractérisation quantitative des propriétés de détection en volume du mélange $YVO_4:Eu/YAG:Ce$ et d'autre part son implémentation pour l'imagerie de la production oxydante lors d'une inflammation modèle chez la souris. Ce projet sera poursuivi par l'imagerie de tumeurs sous-cutanées à travers des fenêtres dorsales, développées par l'équipe de Corinne Laplace-Builhé à l'Institut Gustave Roussy, dans lesquelles une cartographie de la production oxydante pourra être obtenue. L'objectif sera d'identifier des mécanismes moléculaires et cellulaires de transition pathologique, en s'aidant notamment d'une pharmacologie adaptée et en combinant la détection de ROS avec de la microscopie optique fonctionnelle, permettant par exemple le suivi de la perfusion d'un tissu. L'objectif à terme est d'établir un indicateur caractérisant la sévérité de la maladie et son évolution, permettant l'évaluation de l'efficacité de traitements thérapeutiques.

Le/la stagiaire aura ainsi l'occasion d'utiliser des compétences multiples en conception de nanomatériaux, en biologie cellulaire et en imagerie biologique. Ce stage pourra être poursuivi par une thèse. Celle-ci s'appuiera sur les résultats du stage pour proposer des protocoles innovants d'imagerie multimodale, fonctionnelle et

¹ Casanova et al. *Nat Nanotech* (2009)

² Bouzigues et al. *Chem & Biol* (2014)

moléculaire, utilisant notamment la microscopie optique et l'IRM à l'aide de nanoparticules paramagnétiques³, afin de suivre la dynamique d'une réaction inflammatoire et de réaliser du profilage individualisé de tissu dans l'objectif de développer un nouvel outil diagnostic.

³ *Abdesselem et al. ACS Nano (2014)*

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire Jean Perrin

Adresse : UPMC, 4 place Jussieu, 75005 Paris, tour 32-33 4eme étage

Responsable de stage : Raphaël CANDELIER

Email : raphael.candelier@upmc.fr

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

Profil recherché : expérimentateur

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : oui (pour le stage)

Titre du stage : Imager le développement d'un cerveau entier de vertébré à l'échelle cellulaire

Résumé :

Ce stage s'inscrit dans un projet de recherche visant à suivre le développement du système nerveux central de la larve de poisson zèbre. Nous avons développé au laboratoire un microscope à nappe de lumière qui permet de suivre simultanément l'activité de dizaines milliers de neurones avec une résolution cellulaire. Le stage consistera en la mise au point d'un protocole d'imagerie structurale dynamique avec ce microscope, afin de réaliser automatiquement des séries d'acquisitions 3D de tout le cerveau. Le stage portera aussi sur l'analyse des images obtenues avec la mise en place d'une méthode de suivi temporel de tous les neurones qui permettra d'obtenir les champs de déplacement neuronaux à grande échelle pendant les premières journées de vie et de quantifier l'activité des zones génératrices au cours du temps.

Ce stage constituera la première étape du projet de thèse. Pour celui-ci, on couplera cette analyse purement structurale à une analyse fonctionnelle en suivant en parallèle l'activité des neurones pendant la migration cellulaire. La combinaison de ces techniques permettra de savoir si les connections neuronales se font avant, pendant ou après la migration cellulaire et comment se mettent en place des réseaux neuronaux d'intérêt dans un contexte où de nouvelles cellules apparaissent et se connectent en permanence. Ultiment, l'analyse et la fusion d'un grand nombre d'expériences permettra de construire un modèle de cerveau entier en développement, qui sera mis librement à disposition de la communauté.

« PROPOSITION DE STAGE ET DE THESE »

Laboratoire : **Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (LIPhy), UMR5588 – Grenoble, France**

Adresse :

Equipe MOTIV

**Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (LIPhy),
Université J. Fourier et CNRS UMR 5588,
Bat. E45, 140 avenue de la physique, Domaine univ.,
38402 St Martin d'Hères, FRANCE**

Responsable de stage : **Marco Canepari**

Email : **marco.canepari@ujf-grenoble.fr**

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : **ECOLE DOCTORALE de PHYSIQUE - GRENOBLE**

Profil recherché : **Biophysics, Physiology, Neuroscience**

Possibilité de poursuite en thèse : **Yes, the scholarship to start the PhD on 01/10/2016 is already available.**

Financement envisagé : **Yes, the project is funded by the Labex «Ion Channel Science and Therapeutics (<http://www.labex-icst.fr/en>)» and co-funded by the Federation pour la Recherche sur le Cerveau and by the ANR Grant WaveFrontImag.**

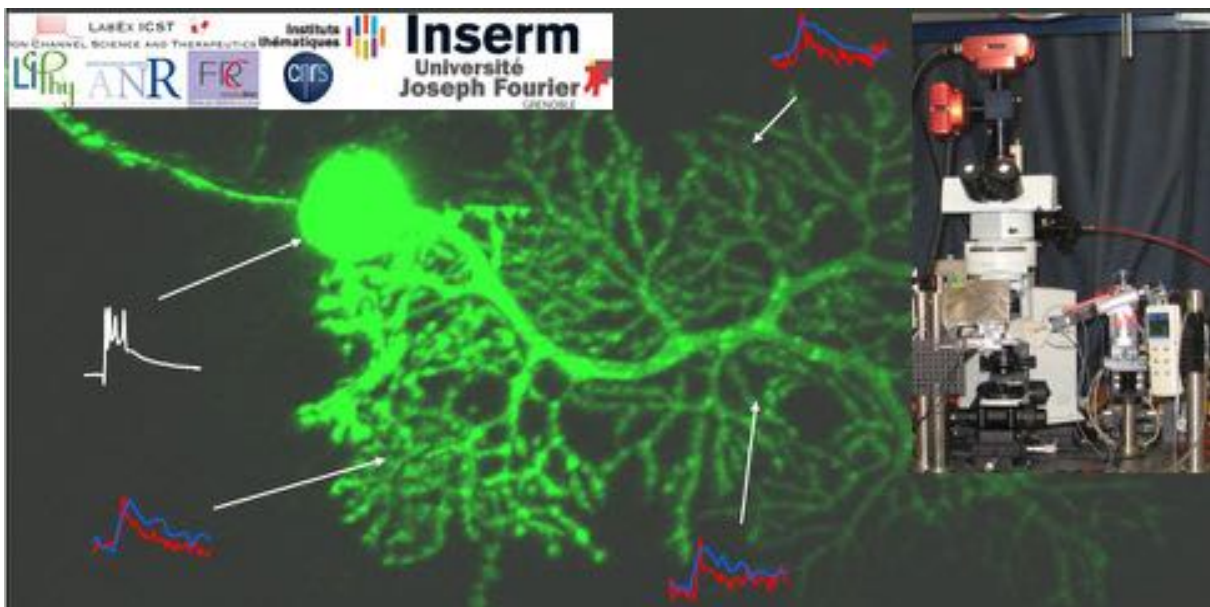
Titre du stage : **Functional Imaging in neurons using a novel confocal technologies**

Résumé

Functional Imaging in Neurosciences allows recording optically the electrical and chemical signals from living cells during their physiological behaviour. A project for a final University stage (level M2) is available in the laboratory of Marco Canepari at the *Interdisciplinary Laboratory of Physics* of the Grenoble University. The goal of the project is to obtain the first optical recordings of calcium signals from single neurons in brain slices using a novel ultrafast confocal system developed in the laboratory. This project is particularly suitable for a student with a background in physics/engineering applied to biology but candidates with other backgrounds will be also considered. The stage will start at the beginning of 2016 and will last 4-6 months according to the requirements of the University program. The possibility to continue with a PhD program at the doctoral school of physics, starting in autumn 2016, will be offered to the student after evaluation of the work performed during the stage. The scholarship for this PhD is already available in the laboratory and no further examination will be necessary to access the doctoral school. The project will involve collaborations with other laboratories in France as well as with international industrial partners. More details on the research activity in the laboratory are available at the website:

<http://marco-canepari.wix.com/neuron-imaging-team>

The candidate must have a strong motivation to pursue a career in science. The candidate selection will be open until the position is fulfilled. Interested candidates must contact via email Dr. Marco Canepari (marco.canepari@ujf-grenoble.fr) possibly indicating a telephone number where he/she can be contacted.



« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (UMR 5588) – Grenoble

Adresse : 140 rue de la Physique – 38402 St. Martin d'Hères
http:// <http://www-liphy.ujf-grenoble.fr/>

Responsable de stage : Giovanni CAPPELLO & Martial BALLAND

Email : Giovanni.Cappello@ujf-grenoble.fr ; Martial.Balland@ujf-grenoble.fr

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

Profil recherché : Physicien avec gout pour la biologie

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Financement envisagé : Bourse du Ministère, Financement AGIR

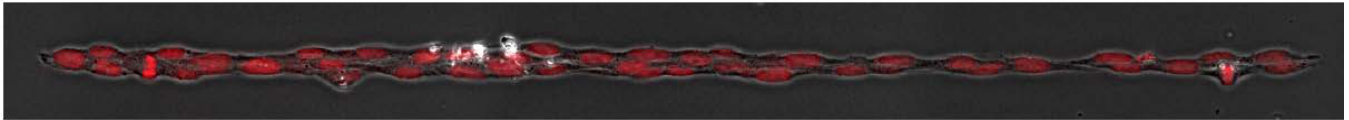
Titre du stage : De la cellule unique au tissu

Résumé :

Objective : The project aims at developing a minimal system in-vitro mimicking a biological tissue.

Context : Living tissues are continuously submitted to external or internal forces such as those implicated in heart beating, breathing or cell intercalation during morphogenesis. During those processes tissues has to maintain mechanical integrity. The maintenance of such integrity is a critical feature for tissue homeostasis and highly depends on the regulation of cell adhesion, shape and contractility.

How tension propagates in a tissue is thus a key element of the comprehension of biological system integrity. In our laboratory, we developed different tools both to measure the forces that cell exert on their environment and to manipulate cells arrangements in vitro.



Internship: The core idea of this internship is to design and realize an in-vitro minimal model that mimics a biological tissue. The student will assemble this pseudo-tissue using micro fabrication techniques to control its shape and size. To probe the mechanical interaction between the pseudo-tissue and the environment, as well as propagation of biomechanics information throughout the tissue, the student will use traction force microscopy, a well-established technique in the team.

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

Keywords: Interface biology/physics, Multicellular systems, Bio-mechanics.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire de Physique, Ecole Normale Supérieure de Lyon

Adresse : 46 allée d'Italie, 69364 Lyon

Responsable de stage : Martin CASTELNOVO (CR1-HDR)

Email : martin.castelnovo@ens-lyon.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED52 PHAST (Lyon)

Profil recherché : Physicien-biophysicien. Modélisateur

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : MSRT

Titre du stage : Viral self-assembly and thin shell elasticity

Résumé :

A virus is a molecular object mainly composed of a genome and a protective proteic shell. Various morphologies of these thin shells, ranging from ideal icosahedron to conical shape, are observed across viral families. Thin shell elasticity allows to rationalize the observations of most shapes based on the value of the spontaneous curvature of the shell. In particular, it has been recently suggested using numerical simulations that a low value of spontaneous curvature leads to cylindrical or conical capsids [1], explaining partially the mysterious origin of the conical shape observed for the HIV-1 capsid.

Yet, additional experimental observations suggest that the interaction between the genome and the self-assembling shell are important. It is the purpose of the present internship to explore the influence of genome-protein interaction on the shape of the resulting viral capsid. Based on an analytical analysis of thin shell elasticity, it is expected that this interaction should induce *pentameric* defects in the otherwise *hexameric* proteic self-assembly, favoring the closure of the shell. This question will be mainly investigated using (an existing) numerical model of growing triangulated surfaces. This study should lead to relevant biological consequences on the viral self-assembly scenario of HIV-1 for example.

[1] Levandovsky A., Zandi R., *Nonequilibrium Assembly, Retroviruses, and Conical Structures*, **Phys. Rev. Lett.** 102, 198102 (2009).

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

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire BNMI, UMR CNRS 6214 – INSERM U1083

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

Directeur du laboratoire : Daniel HENRION

Équipe de recherche (si pertinent) : Structure, fonction et évolution des RCPG

Responsable de l'équipe : Marie CHABBERT

Responsable de stage : Marie CHABBERT

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

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : Biologie Santé Nantes - Angers (ED 52)

Profil recherché : Intérêt pour la biologie structurale et la bioinformatique

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : Bourse des collectivités locales

Titre du stage : Dynamique moléculaire des récepteurs de l'angiotensine II, AT1 et AT2 : effet de facteurs physiques sur l'espace conformationnel accessible

Résumé : Le laboratoire BNMI étudie les voies de signalisation régulées par l'angiotensine II via les récepteurs AT1 et AT2 dans le contrôle du tonus vasculaire et leur altération dans le cas du vieillissement ou de l'hypertension. Les récepteurs AT1 et AT2 font partie des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG). La résolution de la structure de plusieurs RCPG dans des conformations actives ou inactives, dont AT1, fournit de nombreuses informations structurales mais donne une vue statique des récepteurs. Cependant, les récepteurs sont des systèmes dynamiques et les RCPG peuvent être décrits en termes d'ensembles conformationnels. Les récepteurs échantillonnent diverses conformations, influencées par différents ligands et conduisant à différentes fonctions intracellulaires. Ces conformations peuvent être étudiées par des techniques de simulations dynamiques, en particulier la dynamique moléculaire « accélérée » qui permet d'observer des transitions entre états d'activation et d'échantillonner de façon plus complète l'espace conformationnel. Le sujet de ce stage vise à mieux comprendre l'espace conformationnel accessible aux récepteurs AT1 et AT2, par des simulations de dynamique moléculaire classique et « accélérée » et l'influence de facteurs physiques comme la pression sur celui-ci. La connaissance de cet espace conformationnel est nécessaire pour comprendre le rôle de la pression dans la réponse induite par l'angiotensine II et développer des ligands biaisés « basse pression » contrebalançant l'effet de l'hypertension dans la réponse à l'angiotensine II, sans blocage total délétère des récepteurs.

PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire de Biologie Structurale et Radiobiologie

Adresse : CEA Saclay, Bât 144, 91 191 Gif-s-Yvette

Directeur du laboratoire : Jean-Baptiste CHARBONNIER

Équipe de recherche (si pertinent) :

Responsable de l'équipe : JB CHARBONNIER/MH Le Du/S ZINN-JUSTIN

Responsable de stage : JB CHARBONNIER

Adresse électronique : jb.charbonnier@cea.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED425

Profil recherché : Biologie Structurale, Biochimie

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : MNRT, Canceropole, Ligue, IRTELIS(CEA)

Titre du stage : Etude structurale des complexes multi-protéiques de la voie de réparation humaine des cassures doubles brins de l'ADN : Vers la conception de nouvelles molécules pour le traitement de cellules tumorales radio- et chimio-résistantes

Résumé : Les cassures double-brin de l'ADN sont les lésions les plus toxiques de l'ADN. Si ces lésions ne sont pas correctement réparées, des réarrangements chromosomiques importants liés à différentes pathologies sévères. Les cassures double-brin sont également l'objectif visé de traitements anti-cancéreux comme la radiothérapie et un grand nombre de molécules utilisés en chimiothérapie (cisplatine, inhibiteurs de topoisomérase par exemple). De nombreuses études ont montré ces dernières années que les échecs rencontrés en radio- et chimiothérapies sur différents patients proviennent fréquemment d'une surexpression des voies de réparation des cassures double-brin de l'ADN. Un objectif majeur de notre équipe est de comprendre les mécanismes moléculaires de la voie de réparation principale chez l'homme des cassures double-brin, appelée NHEJ pour Non-Homologous End Joining. Notre expertise porte sur la caractérisation des structures cristallographiques des complexes multi-protéiques et l'analyse des interactions des protéines impliquées. Notre second objectif est de dessiner sur la base des informations structurales ou d'identifier à l'aide de cribles haut débit de petites molécules des inhibiteurs de cette voie réparation afin de potentialiser les traitements anti-cancer contre les cellules tumorales résistantes. Le premier objectif a reçu le soutien de l'ANR pour les études structurales et fonctionnelles. Le second volet du projet a été labélisé programme ARC.

Dans le contexte général décrit ci-dessus, l'étudiant en M2, exprimera en cellules d'insectes et purifiera un complexe constitué de 6 protéines de la voie NHEJ sur les 7 facteurs principaux que comporte cette voie de réparation. Le complexe, qui sera étudié au cours du M2, est constitué de l'hétérodimère Ku70-Ku80, qui est en charge de la reconnaissance des cassures double-brin dans les premières étapes. Cet hétérodimère recrute dans le cadre de la réparation de certaines cassures directement le complexe ternaire constitué des protéines Ligase4-XRCC4-Cernunnos qui réalise la ligature des deux brins de l'ADN. Notre laboratoire a étudié la fonction de la protéine Cernunnos, identifié en 2006 par notre collaborateur JP de Villartay (Hop Necker, Paris) (Buck, 2006, Cell; Malivert, 2010, J Biol Chem). Nous avons décrit la première structure 3D du complexe XRCC4-Cernunnos et montré que ce complexe formait des super-structures sous la forme de filaments (Ropars, 2011, PNAS), structures récemment confirmées par des études *in cellulose* (Reid, 2015, PNAS). Suite à ces travaux, en collaboration avec Imre Berger (EMBL -Grenoble), nous avons cloné l'ensemble des facteurs de la voie NHEJ dans un système de vecteurs baculovirus MultiBac. Ce système a montré son efficacité pour produire des quantités importantes de nombreux complexes multiprotéiques eucaryotes.

L'étudiant en M2 déterminera des conditions optimales de production en cellules d'insectes des complexes Ku70-Ku80, Ligase4-XRCC4-Cernunnos et du complexe à 5 sous-unités. Il bénéficiera de l'expertise de l'équipe qui a déjà mis en place une production en cellules d'insectes du complexe Ligase4-XRCC4 et de Cernunnos avec des rendements de 40mg par litre de cellules d'insectes. L'étudiant définira alors un protocole robuste de purification à homogénéité des différents complexes afin de lancer des essais de cristallisation des complexes seuls ou liés à de l'ADN, sur les plateformes haut-débit avec lesquelles nous collaborons. En parallèle de ces études, l'étudiant participera à l'analyse par microscopie électronique à transmission, par cryoEM et par AFM des complexes purifiés du NHEJ en présence d'ADN linéaires ou chromatiniens (Collab E Le Cam, IGR, Villejuif). Le dernier volet du stage M2 portera sur l'étude des interactions protéine-protéine et protéine-ADN réalisées par les 5 sous-unités du NHEJ étudiées à l'aide des méthodes présentes dans notre institut (calorimétrie, SPR,...). L'objectif de ce M2 est de mettre en place tous les outils pour étudier dans le cadre d'une thèse les nombreuses structures 3D des complexes multiprotéiques du NHEJ en action lors de la réparation des cassures double-brin.

Techniques abordées : expression et purification des protéines recombinantes en cellules d'insectes, cristallogénèse, cristallographie, RMN (si nécessaire), microcalorimétrie, anisotropie de fluorescence, microscopie électronique et AFM(collaboration avec E Le Cam).

« 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 :

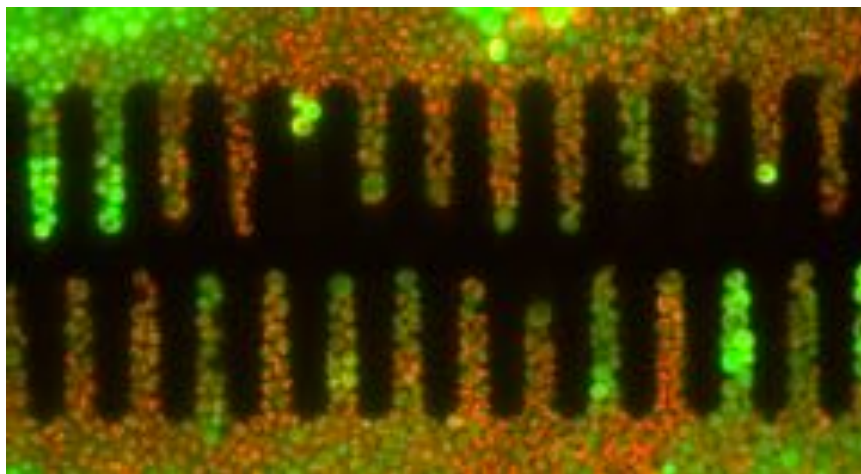
Le vieillissement des organismes vivants s'accompagne de l'incidence croissante de maladies comme le cancer ou les maladies neuro-dégénératives. De très grands efforts de recherche portent sur l'identification des mécanismes moléculaires qui contrôlent ce processus fondamental.

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.



SUJET DE STAGE ET DE THESE

Laboratoire: Physical Approaches to Cell Dynamics and Tissue Morphogenesis
Institut de Biologie du Développement de Marseille

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

Responsable de stage : Raphael CLEMENT, Pierre-François LENNE

Email : raphael.clement@univ-amu.fr

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

Profil recherché: Student with a background in Physics or Biology, interested in physical approaches to biological problems.

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Financement envisagé : BOURSE LABEX - INFORM

Titre du stage: Mechanics of morphogenesis - Irreversibility of morphogenetic deformations

Description du stage: Morphogenesis is a complex physical process in which an organism is sculpted by irreversible deformations of cells and tissues. Understanding how forces generated by actively regulated contractile elements are converted into permanent shape changes at the cell and tissue scale is therefore central to our understanding of development. The acto-myosin cortex, which lines cell membranes, plays a crucial role in generating and transmitting forces. Theory and experiments both suggest that the cortex has a viscoelastic, time-dependent dynamics: reversible (elastic) on short time scales, and irreversible (viscous) on long time scales. In other words, only forces applied long enough can generate permanent deformations. Yet, many questions remain: What is the typical timescale separating the two regimes? What is its physical or molecular origin, and is it under active regulation? In the lab we developed tools to study tissue mechanics, in other words the explicit relationship between forces and deformations. In particular, we use optical tweezers to apply forces at the cell scale in the *Drosophila* embryonic epithelium, and observe the resulting deformations at high spatial and temporal resolution with light sheet microscopy. In parallel, we develop physical models and numerical simulations that provide a framework for the quantitative analysis of our experimental results. So far we have been able to explore the reversible regime of deformations (at short time scales), and to measure the cortical tensions at cell contacts. We propose to use these tools to study cells and tissue behavior at longer timescales, relevant to permanent morphogenetic deformations, in order to estimate the typical timescale of irreversibility. We also wish to determine its molecular origin; for that purpose we propose to analyze how abnormal activity or turn-over of the molecular components of the cortex can affect this timescale.

Bibliography

- Direct laser manipulation reveals the mechanics of cell contacts *in vivo*. *PNAS* (2015)
K. Bambardekar, R. Clément, O. Blanc, C. Chardès, P.-F. Lenne
- Actin cortex mechanics and cellular morphogenesis. *Trends in Cell Biology* (2012)
G. Salbreux, G. Charras, E. Paluch.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire Jean Perrin

Adresse : UPMC, 4 place Jussieu, 75005 Paris, tour 32-33 4eme étage

Responsable de stage : Georges DEBRÉGEAS

Email : georges.debregeas@upmc.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : 564

Profil recherché : expérimentateur

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : oui (pour le stage)

Titre du stage : Étude comportementale en réalité virtuelle de la phototaxie chez la larve de poisson zèbre

Résumé :

Ce stage s'inscrit dans un projet de recherche visant à identifier les mécanismes neuronaux qui sous-tendent la **phototaxie** - le comportement d'attraction vers une source de lumière - chez la larve de poisson zèbre.

Le stage consistera en la mise au point d'une **expérience de comportement en réalité virtuelle**. Une larve, partiellement immobilisée, sera soumise à une illumination directionnelle. Par un suivi optique en temps réel des battements de queue, la position angulaire virtuelle de l'animal sera calculée à chaque instant et l'orientation de la source lumineuse sera instantanément mise à jour. On cherchera ainsi à établir, de manière probabiliste, comment le stimulus visuel module la statistique des mouvements de réorientation et conduit l'animal à s'orienter dans la direction de la source lumineuse.

Ce stage constituera la première étape du projet de thèse. Pour celui-ci, on utilisera la méthode **d'imagerie calcique par nappe laser**, qui permet de suivre la dynamique de l'intégralité des neurones de l'animal *in vivo*, afin d'identifier les circuits neuronaux à l'origine de ce comportement. Nous avons d'ores et déjà mis en évidence l'existence d'un oscillateur neuronal dans le rhombencéphale qui contrôle les saccades oculaires spontanées et dont la dynamique peut être modulée par une stimulation visuelle uniforme. Compte-tenu de la coordination saccades oculaires/mouvements de réorientation, ce circuit devrait jouer un rôle central dans le processus de phototaxie.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Cell Adhesion and Mechanics

Adresse : CNRS UMR7592, Institut Jacques Monod, 15 Rue Hélène Brion, 75013 Paris

Responsable de stage : Delphine DELACOUR

Email : delphine.delacour@ijm.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED562 Bio Sorbonne Paris Cité

Profil recherché : Cell biology and biophysics

Possibilité de poursuite en thèse : Non

Financement envisagé :

Titre du stage : Epithelial dynamics on 3D environments and consequences on intestinal tissue morphogenesis

Résumé :

To shed light on epithelial organization processes, we propose to combine microfabrication techniques and intestinal cultures to generate *in vitro* a “gut-on-chip”, a new 3D system adapted for the culture of intestinal epithelial cells on substrates of defined topography, rigidity and chemistry, that mimics *in vivo* intestinal mucosa. We will concentrate on understanding how physical cues emanating from the microenvironment may be transduced and influence the polarity and differentiation of stem cell progeny along the intestinal epithelial geometry, as well as self-renewal / cell fate balance of intestinal stem cells. We will apply this *in vitro* system to the study of epithelial morphogenesis in a 3D context and to understand the functions of two gene candidates involved in the maintenance of intestinal monolayer integrity, i.e. Apc (Adenomatous Polyposis Coli) and EpCAM (Epithelial Cell Adhesion Molecule).

Laboratoire : Unité de Dynamique Structurale des Macromolécules

Adresse : Institut Pasteur, 25 rue du Dr Roux, 75015 Paris

Directeur du laboratoire : Marc Delarue

Responsable de l'équipe : Marc Delarue

Responsable de stage : Marc Delarue

Adresse électronique : marc.delarue@pasteur.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : Complexité du Vivant

Profil recherché : Biologie Structurale/ Bioinformatique structurale

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : Ecole Doctorale

Titre du stage : Classification structurale des canaux ioniques pentamériques : principes du mécanisme d'ouverture et idiosyncrasie.

Résumé :

Notre équipe a résolu par cristallographie 3 conformations d'un récepteur membranaire *bactérien* de la famille des récepteurs pentamériques sensibles aux neurotransmetteurs comme la glycine, le GABA ou la sérotonine. Le notre, appelé GLIC, est sensible aux protons et provient de la cyanobactérie *Gloeobacter violaceus*. Une de ces conformations est dite au repos (canal fermé), une autre est apparemment ouverte (canal ouvert), enfin une troisième est « localement fermée ». Un autre récepteur bactérien ELIC a été résolu sous forme fermée.

Les états physiologiques connus de cette famille de récepteurs sont au nombre d'au moins trois : ouvert (actif), au repos (fermé) et désensibilisé (fermé). Un défi majeur consiste à relier les conformations dans le cristal aux états fonctionnels. L'année dernière et cette année, plusieurs autres structures de récepteurs pentamériques *eucaryotes* ont été résolues : récepteur à la sérotonine (au repos), au GABA (désensibilisé), au glutamate (ouvert et au repos) et enfin dernièrement le récepteur glycine, par cryo-microscopie électronique (dans ses trois formes).

Nous voudrions y voir plus clair sur les principes structuraux communs à toutes ces structures, ce qui nécessite une analyse beaucoup plus poussée que ce qui a jamais été fait. Certains outils informatiques devront être développés spécialement pour cette analyse. Nous avons déjà commencé dans cette voie, mais il reste pas mal de choses à faire, dont du code pour générer des trajectoires plausibles entre différentes formes structurales du même récepteur. Nous disposons aussi de structures nouvelles encore non publiées de mutants et de complexes avec des modulateurs allostériques, qui devront être mis en perspective avec les autres.

Nous pensons qu'une analyse fine des éléments communs et idiosyncratiques de cette famille de récepteurs permettra d'accéder à une compréhension complète du mécanisme d'ouverture, ce qui aura des implications importantes en neuropharmacologie structurale.

Références

- Sauguet L, Shahsavari A, Delarue M. [Crystallographic studies of pharmacological sites in pentameric ligand-gated ion channels](#). Biochim Biophys Acta. 2015 Mar;1850(3):511-23. Review.
- Sauguet L, Shahsavari A, Poitevin F, Huon C, Menny A, Nemečková A, Haouz A, Changeux JP, Corringer PJ, Delarue M. [Crystal structures of a pentameric ligand-gated ion channel provide a mechanism for activation](#). Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Jan 21;111(3):966-71.
- Sauguet L, Howard RJ, Malherbe L, Lee US, Corringer PJ, Harris RA, Delarue M. [Structural basis for potentiation by alcohols and anaesthetics in a ligand-gated ion channel](#). Nat Commun. 2013;4:1697.
- Sauguet L, Poitevin F, Murail S, Van Renterghem C, Moraga-Cid G, Malherbe L, Thompson AW, Koehl P, Corringer PJ, Baaden M, Delarue M. [Structural basis for ion permeation mechanism in pentameric ligand-gated ion channels](#). EMBO J. 2013 Mar 6;32(5):728-41.
- Corringer PJ, Poitevin F, Prevost MS, Sauguet L, Delarue M, Changeux JP. [Structure and pharmacology of pentameric receptor channels: from bacteria to brain](#). Structure. 2012 Jun 6;20(6):941-56. Review.
- Prevost MS, Sauguet L, Nury H, Van Renterghem C, Huon C, Poitevin F, Baaden M, Delarue M, Corringer PJ. [A locally closed conformation of a bacterial pentameric proton-gated ion channel](#). Nat Struct Mol Biol. 2012 May 13;19(6):642-9.

« PROPOSITION DE STAGE ET DE THÈSE »

Laboratoire : LIPhy (Physique) et IAB (Biologie)

Adresse : campus et site santé de Grenoble

Responsables de stage : Antoine DELON et Eva FAUROBERT

Email : antoine.delon@ujf-grenoble.fr et eva.faurobert@ujf-grenoble.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : 47 - ECOLE DOCTORALE de PHYSIQUE - GRENOBLE

Profil recherché : physicien / biophysicien

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : bourse ministérielle

Titre du stage : Rôle de l'organisation du cytosquelette d'acto-myosine dans la mobilité des récepteurs adhésifs cadhérines et intégrines.

Résumé :

Les cellules biologiques, qui constituent les tissus, adhèrent entre elles et à la matrice extracellulaire (un gel de polymères sécrétés par les cellules elles-mêmes) grâce à un jeu de récepteurs transmembranaires couplés au cytosquelette d'acto-myosine (qui constitue la structure contractile, c'est-à-dire active, interne à la cellule). Parmi ces récepteurs, les cadhérines permettent la formation de jonctions entre cellules adjacentes, à la manière d'une bande velcro qui serait en perpétuel assemblage / désassemblage. Les intégrines interagissent aussi avec la matrice extracellulaire au niveau de structures membranaires appelées invadosomes permettant à la cellule cancéreuse d'adhérer à son microenvironnement et de l'envahir. Ces deux systèmes d'adhérences, jonctions intercellulaires et invadosomes, présentent des similitudes dans leur composition moléculaire, leur régulation par l'oncogène Src et leur connexion avec le cytosquelette d'acto-myosine. Aussi, ils seront utilisés comme modèles comparés pour l'étude de la mobilité des cadhérines et intégrines. Assez étonnamment, mais cela est propre au vivant en général, ces systèmes d'adhérence sont à la fois structurés et dynamiques, c'est-à-dire que les

molécules qui les constituent sont mobiles (elles interagissent, diffusent et/ou bougent de façon directionnelle). **Nous chercherons donc à comprendre comment l'organisation des cytosquelettes d'acto-myosine au voisinage de ces sites d'adhérence régule la dynamique moléculaire des récepteurs par des méthodes de microscopie avancées appliquées à différentes échelles cellulaires.** Ces méthodes reposent sur l'analyse des signaux de fluorescence qui reflètent, à travers leurs fluctuations, les mouvements moléculaires. Il est ainsi possible d'analyser les propriétés dynamiques d'images confocales, pour en tirer des informations sur les protéines d'intérêt qui sont modifiées génétiquement pour être fusionnées avec un marqueur fluorescent. Leurs fonctions peuvent également être contrôlées afin d'identifier des interactions clefs.



Tapis de cellules endothéliales

Il s'agit donc d'un sujet interdisciplinaire adapté à des étudiants ayant une formation en physique et/ou biophysique et motivés par le fait d'appliquer des concepts physiques à la biologie cellulaire et moléculaire. Le stage se déroulera sous la responsabilité conjointe d'un physicien du LIPhy (A. Delon) et d'une biologiste (E. Faurobert) de l'IAB, appartenant à deux équipes de Grenoble collaborant de longue date.

PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE

Laboratoire : Imagerie et Modélisation en Neurobiologie et Cancérologie

Adresse : Campus d'Orsay, bât. 440, 91405 Orsay CEDEX

Responsable de stage : Christophe DEROULERS

Email : deroulers@imnc.in2p3.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : 564, «Physique en Île-de-France»

Profil recherché : numéricien / théoricien

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : oui

Titre du stage : Des tumeurs cérébrales vues à l'échelle des cellules : analyse d'images de tissus et modélisation théorique des processus en jeu (migration, prolifération, angiogenèse, ...)

Résumé :

Le pronostic des tumeurs cérébrales est variable suivant le type et le grade de la tumeur, de «bénin» à «malin avec infiltration des tissus avoisinants par les cellules tumorales sur de longues distances». De même pour l'espérance de vie. Mais elle est de l'ordre de quelques mois pour certaines tumeurs de haut grade, même avec les traitements actuels, et de quelques années pour certaines tumeurs de bas grade, car elles finissent inéluctablement par se transformer en tumeurs de haut grade, si bien que la médecine rencontre une difficulté majeure.

Pour améliorer les traitements, une approche consiste à mieux comprendre les mécanismes de l'évolution de ces tumeurs, en particulier grâce à une modélisation théorique, qui pourrait fournir à terme des outils prédictifs et quantitatifs pour guider les traitements. À l'échelle des cellules, les processus en jeu sont notamment la prolifération des cellules tumorales, leur migration, et (surtout pour les tumeurs de haut grade) l'angiogenèse.

Un des principaux moyens d'observation de ces processus consiste en les biopsies, dont on découpe l'échantillon de tissu en lames minces qui deviennent images sur ordinateur via un numériseur de lames. En effet, grâce à la microscopie et aux marqueurs immunohistochimiques, on peut visualiser les différents éléments qui constituent le tissu tumoral ou encore la répartition des vaisseaux sanguins. L'analyse d'images fournit des données quantitatives qui permettent d'alimenter, de calibrer et de tester les modèles théoriques.

Ce projet consiste en deux aspects, qui peuvent être plus ou moins développés suivant l'intérêt du candidat :

1. extraire des données quantitatives d'images de lames de différentes tumeurs cérébrales de l'adulte et de l'enfant (ce qui peut supposer le développement d'outils informatiques adaptés), par exemple sur la répartition des cellules en prolifération dans le tissu ou sur la forme des vaisseaux sanguins tumoraux,
2. construire, étudier et tester des modèles théoriques d'angiogenèse ou de prolifération et de migration de cellules tumorales dans un tissu, à l'aide de modèles stochastiques sur ordinateur (simulations Monte Carlo, automates cellulaires...) voire, quand c'est possible, d'équations aux dérivées partielles.

PROPOSITION DE STAGE

Laboratoires : LPS (Laboratoire de Physique des Solides/Orsay) / PMMH (Physique et Mécanique des Milieux Hétérogènes - ESPCI/Paris)

Adresse : Bâtiment 510 – Université de Paris Sud

Responsable(s): Carine Douarche (LPS) / Eric Clement (ESPCI)

Téléphone : 0169155344

Email : carine.douarche@u-psud.fr

Organisation collective d'une suspension de bactéries magnétotactiques



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

Toutefois, les modes de propulsion et de détection magnéto et aéro-tactiques sont encore mal compris. À cette fin, nous avons mis au point une unité micro-fluidique pouvant être placée sur la platine d'un microscope inversé à fluorescence qui permet de contrôler les gradients en oxygène ainsi que les champs magnétiques environnants. Cette approche expérimentale permet une observation directe de la bactérie (type sauvage ou mutants) en utilisant des techniques de vidéo rapide et de haute sensibilité qui mèneront à une compréhension approfondie des comportements individuels et collectifs. Nous souhaitons in-fine construire un modèle dynamique décrivant la motilité et l'auto-organisation spatiale de ces populations en présence de contraintes environnementales. Par ailleurs nous souhaitons aussi étudier en détail les propriétés de transport de ce fluide actif bactérien sous l'effet de champs extérieurs (magnétique, gradients d'oxygène), dans des environnements à géométrie simple ou complexe.

- H. M. Lopez, J. Gachelin, C. Douarche, C. Auradou, E. Clement, Turning bacteria suspensions into a "superfluid", PRL **115**, 028301 (2015)
- J. Gachelin, A. Rousselet, A. Lindler, E. Clement, Collective motion in *E. coli* bacteria suspensions, New Journal of Physics, **16**, 025003 (2014).

PROPOSITION DE STAGE

Laboratoires : LPS (Laboratoire de Physique des Solides/Orsay) / FAST (Fluides, Automatique et Systèmes Thermiques/Orsay)

Adresse : Bâtiment 510 – Université de Paris Sud

Responsable(s): Carine Douarche (LPS) / Harold Auradou (FAST)

Téléphone : 0169155344

Email : carine.douarche@u-psud.fr

Influence du rhéotactisme des bactéries sur leur transport par un écoulement

À l'heure actuelle, la motilité des bactéries *i.e.* leur capacité de nage n'est vue que comme un moyen de visiter le milieu à l'échelle microscopique, les déplacements sur les plus grandes échelles se faisant par l'intermédiaire de l'écoulement des fluides. Nous savons maintenant que le couplage nage-écoulement fait pourtant apparaître des phénomènes inattendus, encore inexplorés, et ayant un impact à grande échelle. Pour exemples, nous citerons les résultats récents obtenus par les équipes d'accueil sur la très forte réduction de viscosité du fluide induite par la nage des bactéries dans le cas des écoulements lents (mais caractéristiques des écoulements souterrains), ou encore sur les variations de concentrations locales des bactéries lorsqu'elles s'écoulent dans des capillaires. Les écoulements que nous considérons sont représentatifs de ceux rencontrés dans les problèmes environnementaux, de ceux des bio-procédés ou de ceux liés aux domaines de la santé et du vivant.

L'objectif de ce stage est de clarifier l'hydrodynamique des suspensions de bactéries aux petites échelles et de comprendre ses conséquences sur les échelles macroscopiques. Les expériences consisteront principalement à étudier la nage d'une population de bactéries dans des écoulements micro ou millifluidiques à géométrie bien contrôlée. Les trajectoires des bactéries seront visualisées sous microscope de fluorescence à l'aide d'outils de suivi de particules à 2D ou à 3D développés au laboratoire.

Le projet se place à l'intersection de la Mécanique des Fluides et de la Biologie. Il associe deux chercheurs spécialistes reconnus chacun dans leur domaine. Les résultats permettront de mettre en évidence des phénomènes hydrodynamiques encore non considérés par les biologistes, ou les sciences de l'environnement.

- H. M. Lopez, J. Gachelin, C. Douarche, C. Auradou, E. Clement, Turning bacteria suspensions into a "superfluid", PRL **115**, 028301 (2015)

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Centre d'Ingénierie des Protéines

Adresse : Université de Liège

Directeur du laboratoire : Mme Paulette CHARLIER

Équipe de recherche (si pertinent) : Protein Misfolding and Aggregation

Responsable de l'équipe : Mireille DUMOULIN

Responsable de stage : Mireille DUMOULIN

Adresse électronique : mdumoulin@ulg.ac.be

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : Biochimie, Biologie moléculaire et cellulaire, Bioinformatique et modélisation (<http://www.bbmc-bm.ulg.ac.be>)

Profil recherché : Systèmes Biologiques et Concepts Physiques spécialité Biophysique

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : Bourse FRIA ; pour obtenir cette bourse le candidat doit passer une interview (oct-nov 2016)

Titre du stage : Production, purification et caractérisation de fragments d'anticorps spécifiques de l' α -synucléine

Résumé : La maladie de Parkinson est une maladie neurologique dégénérative affectant le système nerveux et se caractérisant par la perte des neurones de la substance noire. Cette maladie est la deuxième maladie neurodégénérative après la maladie d'Alzheimer : elle affecte environ 1% de la population âgée de plus de 70 ans et constitue donc un enjeu majeur de santé publique. Il n'existe à ce jour, aucun traitement préventif ou curatif ; les traitements utilisés ne traitent que les symptômes. Il est nécessaire de diagnostiquer la maladie à un stade précoce avant l'altération irréversible des neurones. L'objectif de ce travail est de développer des fragments d'anticorps permettant un diagnostic précoce. Le principal challenge consiste à fonctionnaliser les fragments d'anticorps de manière à faciliter (i) leur passage à travers la barrière hématoencéphalique et (ii) leur détection par des techniques d'imagerie bio-orthogonales.

Le travail consistera entre autres à :

- Modifier par génie génétique des fragments d'anticorps spécifiques de l' α -synucléine
- Produire et purifier les protéines mutées
- Vérifier que ces protéines sont toujours capables de lier l' α -synucléine
- Vérifier de ces protéines sont toujours fonctionnelles et stables dans le sérum de souris
- Modifier chimiquement les protéines mutantes pour permettre leur détection par des techniques d'imagerie bio-orthogonales

Ce projet mettra en œuvre les techniques (i) de biologies moléculaires, (ii) de production et purification de protéines, (iii) d'électrophorèse, dot-blot et résonance plasmonique de surface.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Matière et Systèmes Complexes (MSC)

Adresse : 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 Île-de-France (PIF)

Profil recherché :

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : contrat doctoral

Titre du stage : Morphogenesis of the tubular network of a biological model (*P. Polycephalum*):

Growth, self-organization, and optimization

Abstract : *Physarum Polycephalum* is a giant unicellular, “mushroom-like”, organism. In order to supply the diffusive flows which are too slow to transport nutrients and wastes on a macroscopic scale, this primitive organism develops a tubular network in which an oscillatory flow is generated by contraction of the tubular elements. This network can adapt very quickly to change of external conditions (e.g.: displacement of food sources) and optimize its transport efficiency. We shall study the growth and adaptation of *Physarum Polycephalum*'s tubular network, and its interplay with the flow generated in it.

Like *E. Coli*, *C. Elegans* or *Drosophila*, *Physarum Polycephalum* is a model organism intensively studied by the scientific community. In its plasmodium phase, it is made of thousands of undifferentiated nuclei in a single cell, and can reach macroscopic size (up to 40cm). This organism then develops a vascular network (see Figure 1) in which an oscillatory flow (period ~ 1 minute) is generated by the contraction of the membranous layer surrounding its “veins”. These flows can overwhelm the diffusive flow which is then too slow to transport oxygen, nutrients, or waste on such scales. Thus, *Physarum Polycephalum* is likely the simplest organism with a vascular network. It also has the remarkable ability to modify and reorganize itself according to where the food sources are.



Figure 1: *P. Polycephalum* in its growing phase.

In spite of its apparent simplicity, the growth of the tubular network shares common features with the development of vascular systems in higher organisms, or with the mechanisms that take place in the irrigation of tumors. In particular, one can clearly identify two stages in the development of the plasmodium: a growing phase during which *P. Polycephalum* explores its environment covering all the plane with a very dense and ramified tubular network. Then a reorganizing phase during which the organism seems to follow an optimization scheme: the network is less and less reticulated. Eventually, the organism is then simply reduced to a few tubular elements directly connecting the different sources of food.

Besides, separate plasmodia of same strain can merge together to create a larger plasmodium. Their networks connect to each other, allowing to exchange cytoplasm, nuclei, vesicles, etc.

While many studies point to the ability of *Physarum* plasmodia to build efficient transportation networks, they do not explain how this is achieved. The aim of the present study is to identify the mechanisms involved in the network formation and evolution during three well identified stages of *P. Polycephalum* development:

- during the creation of the primary highly reticulated network associated with the growing phase of the organism
- during the reorganization and optimization of the network, associated with the pruning of tubular elements and the disappearance of loops
- during the merging of the networks of two plasmodia in contact, during which two disjointed networks merge together.

To do so, we will need to acquire two kinds of data simultaneously: the structural characteristics (diameters, lengths, angles at bifurcation, redundancy of the network, node connectivity) on one side, and the distribution of flows on the other side. These data will allow to: *i*) study the interplay between growth or reorganization of the tubular elements and the flows going through them; *ii*) measure the hydrodynamic constraints associated with the oscillatory flows; *iii*) correlate the disappearance of loops with the synchronization of the flows in the network during the reorganization process.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Matière et Systèmes Complexes (MSC)

Adresse : 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 Île-de-France (PIF)

Profil recherché :

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : contrat doctoral

Titre du stage : **Patterns of a lattice of interactive spins as a model for cellular systems**

It is well known that the Ising Hamiltonian can be used to describe the interface between two media, represented respectively by the upward pointing and downward pointing spins, as the energy of such a system is proportional to the length of the boundary between the two domains. The Potts model, which is an extension of the Ising model to the case where spins can have Q ($\gg 1$) different values, allows to modelize interfaces between Q different domains. Typical configurations form cellular patterns, as exemplified in Figure 1.

We observe a strong correlation between the geometry (size) and topology (number of sides/neighbours) of the domains: the larger domains have statistically more sides than the smaller ones.



Figure 1: Example of cellular pattern obtained using extended Potts model. Here, every color represents a different domain.

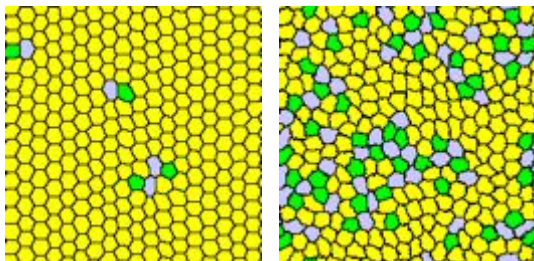


Figure 2: Order-disorder transition. Yellow: 6-sided domains; green: 5-sided domains; purple: 7-sided domains.

Moreover, depending on the temperature and the domain sizes, a topological order-disorder transition is observed: At low temperature and low polydispersity of domain size, system self-organizes to a well-ordered structure in which all the domains have 6 neighboring domains (hexagonal pattern). At higher temperature or dispersity of domain sizes, a transition occurs and a finite fraction of domains with non-hexagonal shape appears (see Fig. 2).

There is a two-fold interest in studying such a system:

1/ At very low temperature the pattern looks like a foam (smooth boundaries) and is frozen, that is, the system is trapped in one of its many metastable states. However, a dynamics can be conferred to the system by

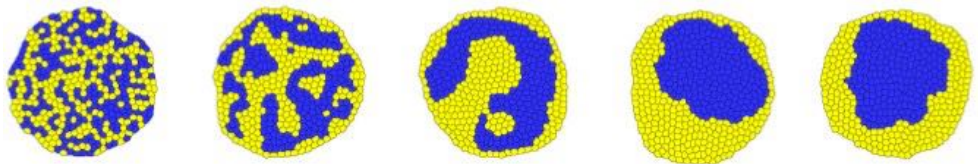


Figure 3: Example of cell sorting dynamics obtained with the extended Potts model: at the initial time, blue cells and yellow cells are placed randomly. Homotypic cells segregate as a consequence of energy minimization.

mechanical shuffling: using active spins on the boundaries of the lattice, displacement of the boundaries can be controlled. Therefore, Potts simulations allow then to easily test/compare statistical properties and the evolution of cellular patterns in a thermodynamic equilibrium situation (thermal shuffling) and out-of-equilibrium situation (mechanical shuffling).

2/ It allows to modelize the self-organization between biological cells which occur during cell tissue morphogenesis and embryogenesis. As an illustration, Fig. 3 shows a "cell sorting" time series of a cluster of cells, which occur when choosing different coupling constant between like (blue-blue or yellow-yellow) and unlike (blue-yellow) site values.

The aim of this internship is to characterize, numerically and analytically, the statistical properties of the domains under different modes of shuffling, elucidate the correlations between topology (number of sides) and geometry (size domain) and characterize the order-disorder transition.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Matière et Systèmes Complexes, CNRS UMR 7057 et Univ. Paris Diderot

Adresse : 10 rue Alice Domon et Léonie Duquet

Responsable de stage : Florence Elias, Julien Dervaux

Email : florence.elias@univ-paris-diderot.fr

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

Profil recherché : M2 de Physique intéressé par la biologie ; stage expérimental.

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : bourse Ecole Doctorale

Titre du stage : Nage d'une micro-algue motile dans une mousse liquide.



Gauche : Production massive de mousse dans la baie d'Audresselle (encadré : *P. globosa* sous sa forme flagellée). Milieu : *C. reinhardtii* (diamètre de 5 à 10 μm) dont on peut distinguer les flagelles. Droite : sédimentation dans une mousse liquide (schéma).

Résumé : Des formations importantes d'écume de mer sont régulièrement observés sur certains rivages comme les côtes de la Manche et de la mer du Nord. La production massive de mousse est consécutive à l'efflorescence (*bloom*) d'une micro-algue marine, *Phaeocystis globosa*, qui occupe jusqu'à 75 % de la population phytoplanctonique totale lors d'un bloom. L'apparition de mousse s'accompagne d'une chute importante de la population du phytoplancton dans l'eau de mer et certaines espèces (*diatomées*) disparaissent du milieu marin, alors que la prolifération de *P. globosa* ne semble pas affectée par la présence de mousse. Notre hypothèse est que les diatomées seraient retenues dans la mousse et ainsi évacuées mécaniquement du milieu marin. Au contraire des diatomées, *P. globosa* possède des flagelles qui la rendent motile en milieu liquide. Cette motilité lui procure-t-elle un avantage lui permettant de s'échapper hors de la mousse mieux que les espèces non motiles ?

Pour commencer cette étude, nous nous intéressons à la nage d'une micro-algue flagellée modèle, *Chlamydomonas reinhardtii* confinée entre des interfaces liquides. Des résultats préliminaires ont montré que dans un film liquide, la trajectoire suivie par *C. reinhardtii* est qualitativement affectée par un confinement inférieur à deux à trois fois le diamètre de l'algue. Le stage consistera à placer *C. reinhardtii* dans une mousse formée avec un surfactant biocompatible, et à quantifier la dynamique de sédimentation de *C. reinhardtii* hors de la mousse. Une fois formée, une mousse liquide draine au cours du temps : le liquide s'écoule sous la mousse, entraînant d'éventuels débris qui ne sont pas bloqués dans les mailles du réseau liquide. On quantifiera la population de cellules (nombre de cellules et distribution en taille) sortant de la mousse au cours du temps, et on comparera cette dynamique de sédimentation à celle de particules non motiles de mêmes caractéristiques physiques. On cherchera ainsi à déterminer si la motilité procure un avantage à *C. reinhardtii* pour s'échapper hors de la mousse.

Ce sujet sera l'occasion pour l'étudiant(e) de se familiariser avec les techniques expérimentales de culture des algues et de comptage de cellules. Ce stage exploratoire pourra se poursuivre en thèse. On cherchera alors à comprendre finement les comportements qui auront été remarqués au cours du stage par des observations individuelles d'algues dans le réseau liquide de la mousse. On pourra également complexifier la rhéologie du film de savon en ajoutant des polymères biocompatibles dans la solution savonneuse pour la rendre viscoélastique et se rapprocher des conditions naturelles.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire: Laboratoire Jean Perrin

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

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

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

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

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

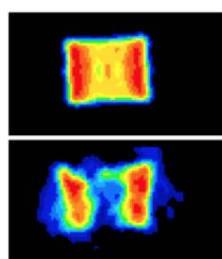
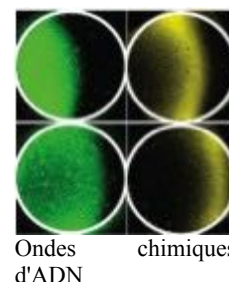
Possibilité de poursuite en thèse : Oui

Financement envisagé : Pas de financement affiché

Titre du stage : Morphogenèse dans des systèmes moléculaires artificiels

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

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



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

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

Dans un **troisième axe** nous couplons les deux approches précédentes à la **synthèse de matériaux contrôlée par des réseaux de réactions chimiques** maintenus **hors équilibre**, comme cela se produit *in vivo*. Pour ce faire nous utilisons des objets nanotechnologiques dont la structure peut être configurée à façon : les origamis d'ADN⁴.

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

1. Padirac, A.; Fujii, T.; Estévez-Torres, A.; Rondelez, Y., [Spatial Waves in Synthetic Biochemical Networks](#) *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 14586-14592.
2. Zadorin AS, Rondelez Y, Galas J-C, & Estevez-Torres A, [Synthesis of programmable reaction-diffusion fronts using DNA catalyzers](#). *Phys. Rev. Lett.* **2015** 114(6). Highlighted in [Nature nanotech](#), [Physics](#) and [Chemistry world](#).
3. Montagne, K.; Plasson, R.; Sakai, Y.; Fujii, T.; Rondelez, Y., Programming an *in vitro* DNA oscillator using a molecular networking strategy *Mol Syst Biol* **2011**, *7*, 466.
4. Rothmund PWK, Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns. *Nature* **2006** 440(7082):297-302.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Institut de Minéralogie, de Physique des Matériaux et de Cosmochimie – UMR7590

Adresse : Case 115, 4 place Jussieu, 75252 PARIS CEDEX 5

Directeur du laboratoire : Guillaume FIQUET

Équipe de recherche (si pertinent) : Bioinformatique et Biophysique – Prédiction des structures protéiques

Responsable de l'équipe : Jacques CHOMILLIER

Responsables de stage : Stéphanie FINET (IMPIC, Paris) – Françoise BONNETE (IBMM UMR 5247 Avignon) – Jean-Jacques LACAPERE (Laboratoire des Biomolécules, Paris)

Adresse électronique : stephanie.finet@upmc.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED 397 Physique et Chimie des Matériaux

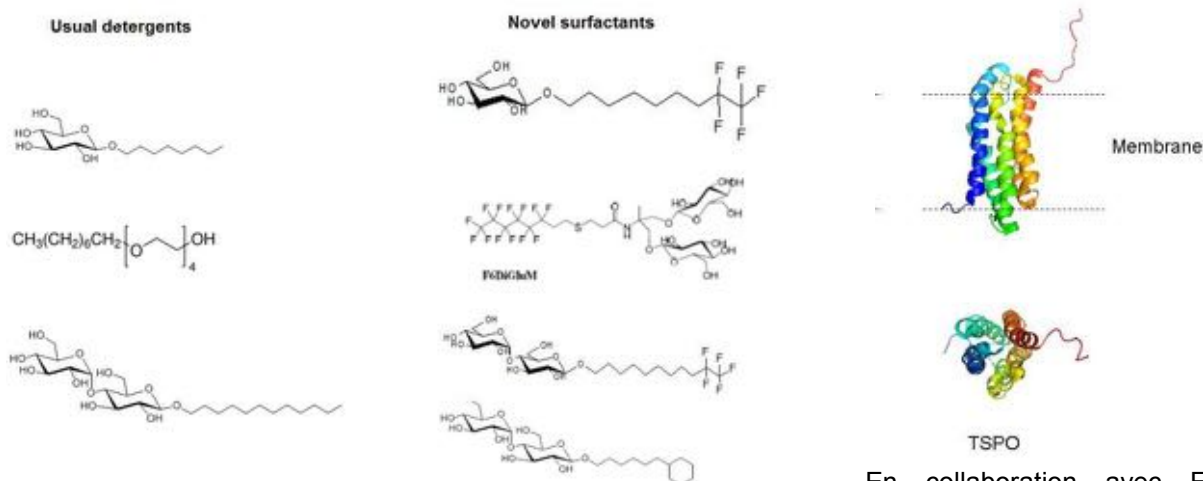
Profil recherché : Biophysicien, Physico-chimiste, Biologiste

Possibilité de poursuite en thèse : OUI –NON

Si oui, financement envisagé : MESR

Titre du stage : Valorisation de nouveaux surfactants pour la stabilisation et la cristallisation de la protéine membranaire mitochondriale TSPO impliquée dans le transport du cholestérol

Résumé : Les protéines membranaires (PM), présentes au sein de la membrane lipidique, jouent un rôle majeur dans de nombreux processus cellulaires (signalisation, transfert et communication entre les cellules et avec l'environnement extérieur). Bien que les protéines exprimées représentent en moyenne 60% des cibles thérapeutiques, il existe un déficit notable d'informations structurales de ces protéines par rapport aux protéines solubles (1% des structures connues). Cela est du, entre autre, à une stabilisation et/ou une cristallisation difficile qui nécessitent la présence de molécules amphiphiles (lipides et tensioactifs). Malgré 3 prix Nobel en 25 ans, la caractérisation des PMs reste un défi de la biologie structurale et de la chimie thérapeutique. La recherche de nouvelles familles de tensioactifs stabilisant les PMs et facilitant leur cristallisation est devenue incontournable.



En collaboration avec F. Bonneté (IBMM/CBSA, Avignon), dont l'équipe est impliquée depuis de nombreuses années dans le développement de nouveaux tensioactifs, ce projet vise à étudier l'influence de nouveaux tensioactifs [figure de gauche] sur la cristallisation des protéines membranaires [1-2]. Pour cela, les **complexes protéines/surfactants seront caractérisés et modélisés par diffusion de lumière (DLS et MALS), diffusion des rayons X (SAXS) et/ou cristallographie**. La protéine membranaire d'intérêt est la TSPO, petite protéine membranaire mitochondriale impliquée -entre autre- dans le transport du cholestérol à travers la membrane externe de la mitochondrie. Ce projet est en collaboration avec JJ Lacapère du Laboratoire des Biomolécules, qui produit et étudie la TSPO de souris [3]. En effet, chez les Mammifères, aucune structure cristallographique de TSPO n'est connue à ce jour, (malgré une forte similarité avec une TSPO bactérienne dont la structure cristallographique a pu être obtenue récemment [4] (figure à droite)), et la structure et les mécanismes fonctionnels de la TSPO restent à être élucidés.

[1] Dahani, M., et al., *Use of dynamic light scattering and small angle X-ray scattering to predict efficiency of new surfactants for membrane protein crystallization*. Acta Cryst F, 2015 **71**: p.838-846.

[2] Barret, L.-A., et al., *Influence of Hydrophobic Micelle Structure on Crystallization of the Photosynthetic RC-LH1-PufX Complex from Rhodospirillum rubrum*. J Phys Chem B, 2013. **117**(29): p. 8770-8781.

[3] Lacapere, J.-J., et al., *Structural Studies of TSPO, a Mitochondrial Membrane Protein*, in *Membrane Proteins Production for Structural Analysis*, I. Mus-Veteau, Editor. 2014, Springer New York. p. 393-421.

[4] Guo, Y., et al., *Structure and activity of tryptophan-rich TSPO proteins*. Science, 2015. **347**(6221): p. 551-555.

« PROPOSITION DE STAGE ET DE THESE »

Laboratoire : Nanobiophysique, ESPCI ParisTech

Adresse : 10 rue Vauquelin, 75005 Paris

Responsable de stage : Laurent Geffroy Thierry Bizebard

Email : laurent.geffroy@espci.fr

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

Profil recherché : Interface physique biologie, expérimental

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : oui

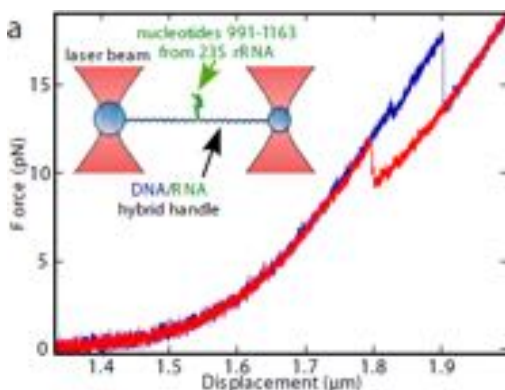
Titre du stage : RNA/protein interactions in ribosome assembly studied by force measurements

Résumé :

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

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

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



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

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

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : CEA, Institut de Biologie et Technologies - Saclay (iBiTec-S), Service de Biologie Intégrative et Génétique Moléculaire (SBIGeM)

Adresse : Bât. 144, CEA/Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette Cedex France

Directeur du laboratoire : Annick Harel-Bellan

Équipe de recherche (si pertinent) :

Responsable de l'équipe : Julie Soutourina

Responsable de stage : Arach Goldar

Adresse électronique : arach.goldar@cea.fr

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

Profil recherché : Physique, Biophysique, Physique-Chimi

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : Ecole doctoral, Idex Paris-saclay, CEA

Titre du stage : Out of Equilibrium genomics

Résumé :

Comprehensive knowledge of genetic inheritance at different developmental stages relies on elucidating the mechanisms that regulate the spatio-temporal DNA replication and transcription program and their possible conservation during evolution. Replication and transcription regulations in the nucleus are the culmination of the action of diverse range of molecular factors (origin initiator factors, transcription factors, chromatin remodellers, polymerases, helicases, topoisomerases, kinases, chaperones, proteasomes, acetyltransferases, deacetylases and methyltransferases). Determining how these molecules work in concert in the eukaryotic nucleus to regulate genes expression and/or genome duplication remains a central challenge in molecular biology. Multi-proteins complexes assemble and disassemble on genes or replication origins within seconds, nucleosome turnover ranges from minutes to hours, gene activity and replication origin firing demonstrates complex spatio-temporal patterns. New experimental advances have enabled the study of dynamic transcriptional and replication regulation at the single-molecule and genome wide levels. While genome-wide approaches have generated comprehensive maps of regulation of genes and DNA replication origin firing for a population of cells, single-cell and single-molecule techniques demonstrate a great variability in gene expression and replication origin location and firing time among cells in a population, owing in part to the stochastic nature of transcription and replication. Despite these tremendous advances in understanding the behaviour of individual factors, both methods fall short of capturing the sequence of events that is required to activate or repress a gene or a replication origin. The gulf between actual mechanisms of DNA replication and transcription regulation and experimental capability could be bridged by using quantitative models.

The common feature of existing theoretical methods that describe the kinetics of DNA replication and transcription is that they do not take into account the details of the dynamics path of these processes. Here, we will study explicitly the dynamics of replication and transcription process in yeast and human. By building a macroscopic model of DNA replication and transcription without *a priori* considerations on the processes that induce the duplication of the genome or the expression of a gene. By using thermodynamics arguments, we will show that the replication process alike the transcription evolves as an out-of-equilibrium phenomenon. To carry out, the development of a general non-equilibrium framework we will use concepts from equilibrium and non-equilibrium statistical mechanics. In this way we will show that both the dynamics of replication and transcription process could be mapped to a Langevin type equation, whose generic properties will allow us to define the source of entropy production that drives these processes out of equilibrium. The other advantage to map these processes to a dynamics stochastic equation is that we will have the opportunity to make an analogy with the dynamics of an overdamped oscillator. This analogy would help us to define a potential in which the replication and transcription process evolve. This potential will allows us to infer from experimental data the local rate of DNA replication or DNA

transcription for a particular gene. Therefore, any cell dysfunctioning modifies the temporal and spatial profile of this potential. We will backup our theoretical studies with numerical ones, where by using dynamical MonteCarlo method we will simulate DNA replication and gene expression for two model system: yeast and Human. Our results will be constantly confronted with published and experimentally measured genome-wide, single-cell and single-molecule data. Finally, we will retain only models who are biologically relevant and in good accordance with all experimental data.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire Interdisciplinaire de Physique

Adresse : Campus Grenoble, 140 rue de la Physique, F-38402 St Martin d'Hères

Directeur du laboratoire : J.L. Barrat

Équipe de recherche (si pertinent) : Matériaux, Optique et Techniques Instrumentales pour le Vivant

Responsable de l'équipe : A. Delon

Responsable de stage : A. Gourrier & D. Débarre

Adresse électronique : aurelien.gourrier@ujf-grenoble.fr / delphine.debarre@polytechnique.edu

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED 47 Physique Grenoble

Profil recherché : interface Physique/Médecine

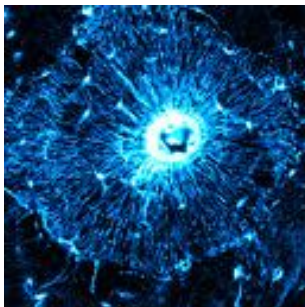
Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : ED Grenoble

Titre du stage : QUELLES SONT LES CARACTÉRISTIQUES PHYSIQUES SUB-MICROSCOPIQUES
DU RÉSEAU CELLULAIRE OSSEUX ?

Résumé :

La caractérisation par méthodes optiques du réseau cellulaire imbriqué dans le tissu osseux constitue actuellement un enjeu biomédical important. Ce réseau de cellules dendritiques (osteocytes) est fortement interconnecté et s'apparente, d'un point de vue physique, au réseau neuronal. De par son rôle mécanosenseur, il agit comme une boucle de contrôle pour l'adaptation biomécanique et la réparation tissulaire et semble être impliqué dans les processus de vieillissement et pathologiques. Ce réseau est cependant pour l'instant très mal connu car les méthodes généralement utilisées pour sa caractérisation tridimensionnelle sont lourdes à mettre en œuvre.



réseau cellulaire osseux imagé
par microscopie confocale
(250 μm)²

Ce stage fait suite à une première thèse ayant permis d'acquérir une expertise unique en France en imagerie confocale et non-linéaire (biphoton, génération de seconde et troisième harmonique SHG/THG) pour la visualisation et l'analyse du réseau cellulaire osseux*. Nous souhaitons mettre à profit l'expérience acquise pour identifier plus précisément les variables caractéristiques du réseau sur un modèle murin de l'échelle microscopique à celle de l'os entier.

L'objet de ce stage est :

- de préparer des échantillons selon un protocole permettant l'imagerie complète d'un fémur de souris.
- d'effectuer l'acquisition des images et leur analyse afin d'extraire le tracé du réseau cellulaire osseux.
- d'étudier les paramètres du réseau à l'échelle de l'organe entier pour caractériser ses variations spatiales et les corrélés aux sollicitations mécaniques de l'os.

Cette étude repose en premier lieu sur un travail expérimental (préparation d'échantillon, microscopie de fluorescence), combiné à un traitement d'image permettant l'analyse multiéchelle du système de porosité.

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

* en collaboration avec le Laboratoire d'Optiques et de Bioscience, École Polytechnique, Palaiseau

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : **Complex Systems and Matter**

Adresse : **Univ. Paris 7, 10 rue Alice Domon et Léonie Duquet, 75013 Paris**

Responsable de stage : **François Graner (Paris), Hélène Delanoë-Ayari (Lyon)**

Email : **Francois.Graner@univ-paris-diderot.fr, Helene.Delanoë-Ayari@univ-lyon1.fr**

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : **Physique Ile-de-France (EDPIF 564)**

Profil recherché : **experimentalist in physics or biology, willing to work at the interface**

Possibilité de poursuite en thèse : **yes**

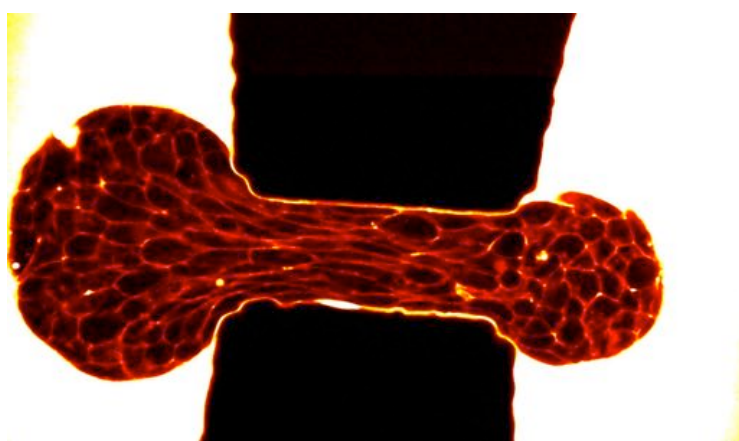
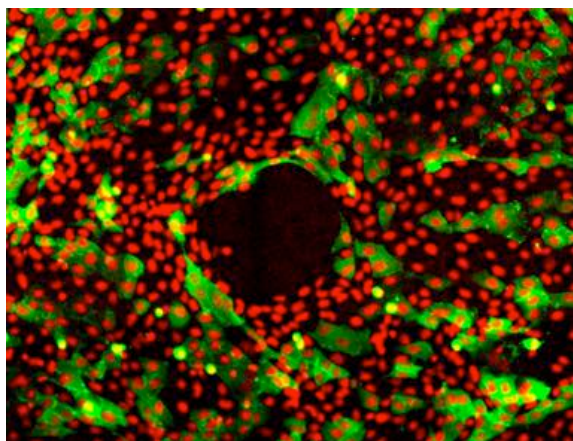
Financement envisagé : **Ecole doctorale**

Titre du stage : **Mechanical properties of cell assemblies**

It is now well acknowledged that mechanics is playing an important role on cell fate and behavior. 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 PhD will consist in joining a collaboration between biophysicists on in vitro assemblies of cells. Cells will be forced to flow in a heterogeneous geometry, such as around an obstacle or through a hole, either in 2D and in 3D. Such geometries have already been decisive to discriminate between models of complex fluids in the case of liquid foams. Preliminary results show the feasibility of the same approach on in vitro cell assemblies (and potentially in vivo too in the future).

An important information 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. Recently, liquid probes have already been successfully introduced, 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, we have reproducibly produced tailor made elastic polymeric probes with optimal rigidity and size. Feasibility tests have identified the next steps: introducing them inside tissues, and imaging them in dynamic conditions within the optimal time and space resolution.

We have established statistical tools to link the discrete description of each cell with the flow description in term of continuous mechanics, thus enabling a precise comparison between experiments and models. Altogether, combining measurements of cell velocity, cell deformation, cell neighbour changes, and stresses, should lead to a wealth of data. In collaboration with modellers in Grenoble, we plan to develop and test predictive mechanical models of in vitro cell assemblies. We will investigate how their mechanical behaviour differs, not only from that of passive physical materials, but also from in vivo living tissues in fruit fly morphogenesis, for which experimental data are currently acquired at a fast pace.



Left: 2D monolayer of cells, migrating from left to right around a circular obstacle; nuclei are in red, and representative cells are in green. Right: A cellular aggregate aspirated from left to right through a microfluidics canal, observed in 3D using two-photon microscopy.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : **Complex Systems and Matter**

Adresse : **Univ. Paris 7, 10 rue Alice Domon et Léonie Duquet, 75013 Paris**

Responsable de stage : **François Graner (Paris), Pierre Saramito (Grenoble)**

Email : **Francois.Graner@univ-paris-diderot.fr, Pierre.Saramito@imag.fr**

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : **Physique Ile-de-France (EDPIF 564)**

Profil recherché : **Algorithms and programmation.**

Willingness to link experiment, numerics and analytics, with mathematicians and biophysicists

Possibilité de poursuite en thèse : **yes**

Financement envisagé : **Ecole doctorale**

Titre du stage : **Mechanical properties of living tissues: a numerical model**

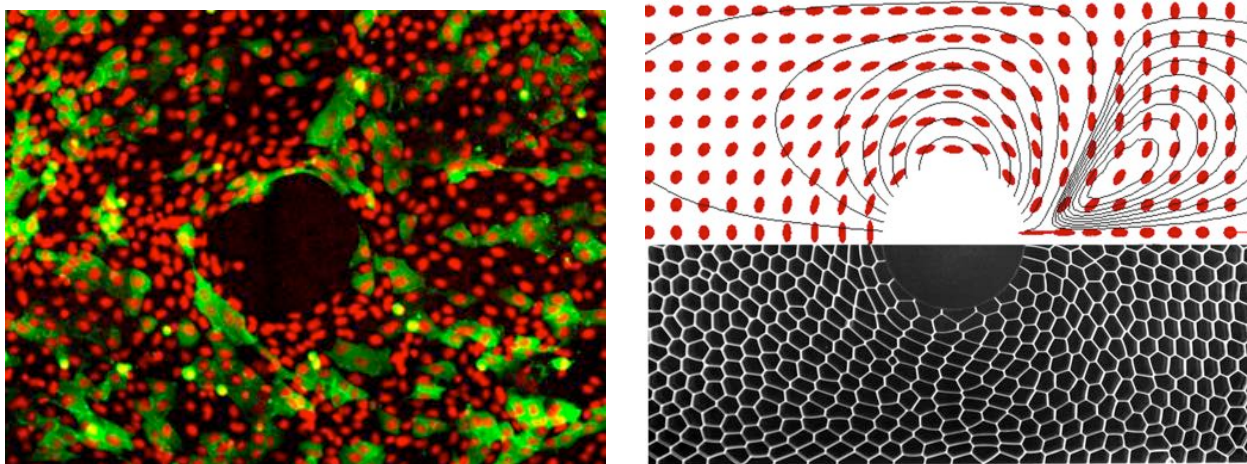
Biological tissues have structures which evolve, in particular during embryo development, wound healing or tumor proliferation. Their dynamics, regulated through an interplay between genetics and mechanics, is complex. We aim at disentangling and understanding the contribution of mechanics. Does the mechanical behaviour of a tissue differ fundamentally from that of a passive material? Can it be modelled in term of continuum mechanics, with partial differential equations? Ultimately, will it be possible to solve dynamical equations leading to experimentally testable predictions?

To address these questions, we have already analyzed experiments in 2 and in 3 dimensions, ranging from the more realistic to the simplest:

- In vivo: in collaboration with geneticists, the actual metamorphosis of a fruit fly larva to an adult fly.
- In vitro: assemblies of cells (Figure, left), which are motile and anisotropic. Their mechanical behaviour is fully realistic and the genetics is considerably simplified.
- Physical system: liquid foam (Figure, right), a model to understand materials which are both solid and liquid. The mechanical behaviour, although much simpler than that of tissues, is already complex: simultaneously viscous, elastic and plastic.

We have established statistical tools to link the discrete description of each cell with the flow description in term of continuous mechanics, thus enabling a precise comparison between experiments and models. We have also already proposed a mechanical model which is able to predict efficiently how a foam flows in realistic geometries (Cheddadi 2011). Finally, we have proposed a formalism based on the dissipation function, able to handle supplementary ingredients such as cell anisotropy and motility (Tlili 2015).

We are thus fully equipped to address the mechanics of in vivo cell assemblies. The PhD thesis will involve analytical models and numerical resolution of highly non-linear equations. There will be an opportunity to collaborate with experimentalists, including H. Delanoë-Ayari in Lyon. Perspectives include the study of in vivo fruit fly morphogenesis, for which experimental data are currently acquired at a fast pace.



Left: monolayer of cells, migrating from left to right around a circular obstacle; nuclei are in red, and representative cells are in green. Right: Soap froth monolayer flowing from left to right around a circular obstacle; the experiment (bottom) is compared with numerical predictions (top).

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire de Physique de la Matière Condensée

Adresse : Ecole Polytechnique, F-91128 Palaiseau France

Directeur du laboratoire : Mathis PLAPP

Équipe de recherche (si pertinent) :

Responsable de l'équipe :

Responsable de stage : Denis GREBENKOV

Adresse électronique : denis.grebenkov@polytechnique.edu

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

Profil recherché : biophysique, physique statistique

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Si oui, financement envisagé : A discuter

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 (pincettes 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 calcul scientifique (par exemple, Matlab) et de la motivation forte pour la recherche interdisciplinaire. Le stage pourrait éventuellement déboucher sur une thèse sous certaines conditions (à discuter).

Pour avoir plus d'information, veuillez étudier les liens suivants :

<http://pmc.polytechnique.fr/pagesperso/dg/>

http://pmc.polytechnique.fr/pagesperso/dg/publi/publi_e.htm

www.inadilic.fr

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/OU DE THESE »

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 : ED « Interfaces » de l'Université Paris-Saclay

Profil recherché : biophysique, physique statistique

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : à discuter

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 (pincettes 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 calcul scientifique (par exemple, Matlab) et de la motivation forte pour la recherche interdisciplinaire. Le stage pourrait éventuellement déboucher sur une thèse sous certaines conditions (à discuter).

Pour avoir plus d'information, veuillez étudier les liens suivants :

<http://pmc.polytechnique.fr/pagesperso/dg/>

http://pmc.polytechnique.fr/pagesperso/dg/publi/publi_e.htm

www.inadilic.fr

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/OU DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire de Physique de la Matière Condensée / Laboratoire d'Hydrodynamique

Adresse : Ecole Polytechnique, F-91128 Palaiseau France

Directeur du laboratoire : Mathis PLAPP

Équipe de recherche (si pertinent) :

Responsable de l'équipe :

Responsable de stage : Denis GREBENKOV, Marcel FILOCHE, Abdul BARAKAT

Adresse électronique : denis.grebenkov@polytechnique.edu

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

Profil recherché : biophysique, physique statistique, hydrodynamique

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Si oui, financement envisagé : A discuter

Titre du stage : Modeling blood flow and mass exchange in the human placenta

Résumé : The human placenta is the single link between the growing fetus and the mother during nine months of pregnancy. Since blood of the mother and blood of the fetus do not mix, the structure of the placenta is optimized for efficient exchange of oxygen, carbon dioxide, water, nutrients and waste products between the fetal and the maternal blood. Anatomical observations report the placental structure as a 16-generation branching tree of fetal vessels immersed in a basin of maternal blood. Understanding exchange in this sophisticated structure is necessary for understanding the function of the human placenta and can help diagnosing health risk for newborns. The goal of this internship is to simulate maternal blood flow in a model structure of the human placenta and to compute oxygen uptake. The tree of fetal vessels will be modeled as an array of curved cylinders arranged in a structured or random fashion (Fig. 1) mimicking the experimentally-observed structure (Fig. 2). The Navier-Stokes equations in this model can be solved numerically with the help of COMSOL Multiphysics® and Matlab®. The influence of a driving arterial-venous hydrostatic pressure difference as well as the influence of non-slip boundary conditions at the wall of the vessels tree will be studied. Results of these numerical calculations will be compared to theoretical predictions [1,2].

Bibliographie :

[1] A. S. Serov, C. Salafia, M. Filoche, and D. S. Grebenkov, *Analytical theory of oxygen transfer in the human placenta*, J. Theor. Biol. 368, 133-144 (2015).

[2] A. Serov, C. Salafia, P. Brownbill, D. S. Grebenkov, and M. Filoche, *Optimal villous density for maximal oxygen uptake in the human placenta*, J. Theor. Biol. 364, 383-396 (2015).



Figure 1. An example of a geometry imitating internal structure of the human placenta

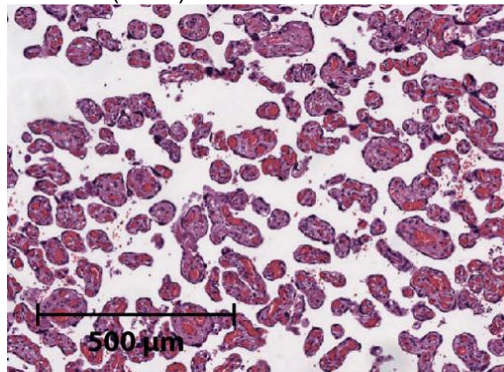


Figure 2. A typical histological placental section representing a 2D cut of the vessels tree of the human placenta

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire de Biologie Structurale et Radiobiologie
Adresse : Bat 144, CEA Saclay, 91190 Gif-sur-Yvette, (01 69 08 67 17)

Responsables de stage : Raphaël GUEROIS & Jessica ANDREANI

Email : guerois@cea.fr / jessica.andreani@cea.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED425. Ecole doctorale innovation thérapeutique

Profil recherché : Bioinformatique et biologie structurale

Possibilité de poursuite en thèse : oui

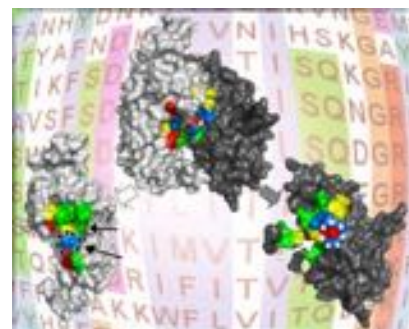
Financement envisagé : Concours Ecole Doctorale

Titre du stage : Prédiction structurale des complexes protéiques : Stratégie couplée alliant bioinformatique et coévolution expérimentale

<http://ibitecs.cea.fr/dsv/ibitecs/english/Pages/units/sb2sm/lbsr/molecular-assemblies-genome-integrity.aspx>

Résumé :

Les complexes protéiques sont au cœur de la plupart des processus biologiques. Notre projet vise à découvrir comment les surfaces d'interaction entre protéines contrôlent la communication entre différentes machineries cellulaires avec un intérêt particulier pour les machineries modulant l'établissement de l'information épigénétique [1,2]. Au cours des dernières années, notre équipe a contribué à améliorer les **méthodes de prédiction des structures de complexes protéiques** en intégrant la dimension évolutive aux outils traditionnels [3,4]. L'exploitation combinée des structures et des séquences protéiques a permis de renforcer la fiabilité de nos prédictions avec de très bons résultats au concours international de prédiction CAPRI [5]. Le projet de stage et potentiellement de thèse vise à intégrer un nouveau type de contraintes évolutives issues du développement



des technologies de « Deep Mutational Scanning » [6] et bénéficiant de l'essor considérable des techniques de séquençage à haut débit. Ces approches consistent à coupler la mutagenèse systématique de toutes les positions d'une séquence protéique avec le criblage de propriétés biophysiques telles que la capacité à interagir avec différents partenaires protéiques. Les données ainsi générées sont susceptibles de fournir des contraintes extrêmement utiles aux modélisateurs. L'objectif du projet de stage consistera à explorer sous quelle forme ces contraintes peuvent être intégrées au processus de modélisation. L'intégration des contraintes de coévolution ainsi générées avec les informations issues des séquences naturelles devrait considérablement augmenter le nombre de complexes que nous pouvons modéliser avec précision. Les données de **coévolution artificielle et naturelle** permettront également d'améliorer notre compréhension de la plasticité des interactions protéiques et donc d'affiner nos approches computationnelles. Le projet, soutenu par un financement ANR en 2015, suppose du candidat une grande ouverture d'esprit pour s'impliquer à la fois dans les développements bioinformatiques mais aussi pour interagir au plus près avec nos collaborateurs expérimentalistes et participer activement à l'émergence d'une technologie hybride mêlant modélisations et expériences.

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

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

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

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

[5] <http://www.predictioncenter.org/casp11/docs.cgi?view=presentations>

[6] Fowler DM, Fields S. Deep mutational scanning: a new style of protein science. *Nat Methods.* 2014 11(8):801-7.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Unité de RMN des Biomolécules, Institut Pasteur

Adresse : 25-28 rue du Dr. Roux, 75015 Paris

Directeur du laboratoire : Muriel DELEPIERRE

Équipe de recherche (si pertinent) : CNRS UMR 3528

Responsable de l'équipe : Marc DELARUE

Responsable de stage : Iñaki GUIJARRO

Adresse électronique : inaki.guijarro@pasteur.fr

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

Profil recherché : Motivation pour la biophysique et la biochimie de protéines

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : Bourse Doctorale CDV

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

Résumé :

Les hydrophobines sont des protéines fongiques caractérisées par un motif idiosyncratique de cystéines formant quatre ponts disulfure. Elles présentent des remarquables propriétés physico-chimiques. Elles sont produites par les champignons filamenteux sous forme soluble et s'auto-associent 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 sont présentes au niveau des spores, le morphotype infectieux. Nos collaborateurs ont 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). L'hydrophobine RodC, proche homologue de RodA, semble jouer un rôle dans la protection des spores contre la dessiccation.

Dans le cadre d'une étude interdisciplinaire visant à établir la structure des formes solubles, le mécanisme de formation de fibres, les déterminants de l'amyloïdogénicité et à caractériser la structure des amyloïdes fonctionnels d'*A. fumigatus*, 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 β -croisée qui forme la colonne vertébrale des fibres amyloïdes.

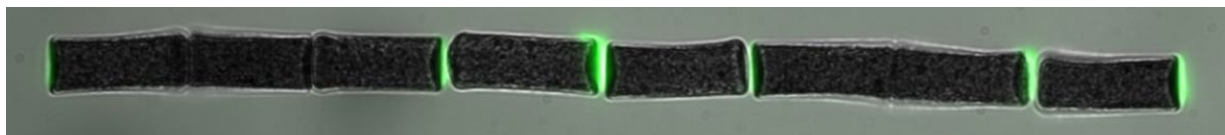
Titre du stage : Mécanique et croissance du cytosquelette d'actine.

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

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

Résumé : Les cellules possèdent un réseau de polymère (le cytosquelette d'actine) étendu et polymorphe qui assure leur rigidité. C'est un réseau très dynamique qui permet aux cellules de se déformer et surtout de se déplacer par la croissance et la contraction de ce réseau. Le déplacement des cellules grâce à leur cytosquelette d'actine sert à de nombreux processus physiologiques comme la cicatrisation, la réponse immunitaire et le développement embryonnaire, mais aussi à l'invasion des métastases cancéreuses. La compréhension des propriétés dynamiques et mécaniques du cytosquelette est donc 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 10 à 100 fois plus de mesures dans un temps identique (*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 et ainsi de mesurer un grand nombre de paramètres mécaniques précédemment inaccessibles (élasticité non-linéaire, module visqueux, plasticité, module de Poisson, ...). Elle nous permet aussi d'étudier quantitativement la vitesse de croissance des réseaux d'actine lorsqu'ils sont soumis à une contrainte mécanique- pour comprendre les mécanismes qui sous-tendent le couplage entre polymérisation et génération de forces.



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

Nous proposons des stages et des thèses dans notre équipe qui peuvent s'orienter dans plusieurs directions : l'étude quantitative de la croissance sous contrainte et de la mécanique 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*) ; l'étude de ces paramètres dans un système reconstitué basé sur des extraits cellulaires de levure qui permet de d'identifier de nouveaux partenaires biochimiques (*collab Alphée Michelot, Marseille*) ; 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*). Une thèse sur certains de ces sujets pourra être financée par une ANR obtenue en 2015 par l'équipe.

julien.heuvingh@espci.fr, olivia.duroure@espci.fr

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : UMR 144 CNRS – Institut Curie – PSL -
Adresse : 12 rue Lhomond 75005 Paris
Directeur du laboratoire : Bruno GOUD
Équipe de recherche (si pertinent) : Motilité Structurale -
Responsable de l'équipe : Anne HOUDUSSE
Responsable de stage : Anne HOUDUSSE
Adresse électronique : anne.houdusse@curie.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : École Complexité du Vivant – ED515 UPMC
Profil recherché : Biophysicien ou Biochimiste

Possibilité de poursuite en thèse : **OUI - NON**
Si oui, financement envisagé : Bourse ou ANR

Titre du stage :

Résumé :

Aim : Investigate how features of Myosin VI and how its binding partners can specify its function as either an anchor or a transporting motor in diverse cellular processes.

Abstract : Cells use molecular motors, such as myosins, to move, position and segregate their organelles. Class VI myosins can accomplish multiple functions to either anchor or transport organelles, vesicles or proteins to actin and they may also serve as short-range transporters. This motor is the only one in cells that produce force in the opposite direction compared to other actin-based motors. Our laboratory has contributed significant breakthrough discoveries on this fascinating motor to understand how force is produced in the opposite direction and how partners can trigger the dimerization of the motor to activate it at the right time and the right location in cells. Our current goal is to combine structural and functional single molecule studies with cell biology experiments to describe which features of the motor are essential for its diverse motor functions and to elucidate how the partners define the exact function of the motor as either an anchor or a transporter in cells. As a potential interesting target to reduce cell migration and metastasis, we also plan to study drug/myosin VI structures in the course of this PhD.

Methodology: The PhD student's primary role in the project will be to determine the structures of myosin VI in complex with partners and to produce and characterize partners of myosin VI to study the functional properties of the motor as a transporter or an anchor when bound to these partners with *in vitro* reconstitution experiments. The recombinant proteins and the protein fragments will be produced using *E.coli* or baculovirus based expression systems. Co-expression within the same cell using dual plasmid will be used when necessary. The minimized protein fragments will be used for biochemical and biophysical characterization of the complexes. Pull-down assay, microscale thermophoresis, isothermal titration calorimetry, fluorimetry methods will be applied to determine the complexes binding affinities, stoichiometry and thermodynamic properties of the protein complexes. Structural characterization of the sub-complexes will be performed using X-ray crystallography or small angle X-ray scattering methods. Once a structure of the complex between Myosin VI and a cargo will have been determined, the student will be trained to perform cell or single molecule studies in the context of the collaboration network of laboratories that we have already in place.

References of the team linked to this project :

Llinas P, Isabet T, Song L, Ropars V, Zong AB, Benisty H, Sirigu S, Morris C, Kikuti C, Safer D, Sweeney HL, Houdusse A. How Actin Initiates the Motor Activity of Myosin. *Developmental Cell* 33, 401-12, 2015.
Pylypenko O, Song L, Shima A, Yang Z, Houdusse AM, Sweeney HL. Myosin VI deafness mutation prevents the initiation of processive runs on actin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015 112, E1201-9, 2015.
Pylypenko O, Attanda W, Gauquelin C, Lahmani M, Coulibaly D, Baron B, Hoos S, Titus MA, England P, Houdusse A. Structural basis of human Myosin V Rab-dependent cargo recognition. *Proc Natl Acad Sci* 110, 20443-8, 2013.
Ménétrety J, Isabet T, Ropars V, Mukherjea M, Pylypenko O, Liu X, Perez J, Vachette P, Sweeney HL, Houdusse AM. Processive steps in the reverse direction require uncoupling of the lead head lever arm of myosin VI. *Mol Cell*. 48,75-86, 2012.
Sweeney HL and Houdusse A, Myosin VI rewrites the rules for myosin motors, *Cell*, 141, 573-82, 2010.
Sweeney HL and Houdusse A, Structural and Functional Insights into the Myosin Motor Mechanism, *Annu Rev Biophys*. 39, 539-57, 2010.

PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE

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

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

Responsable de stage : Julien HUSSON

Email : julien.husson@ladhyx.polytechnique.fr

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

Profil recherché : Formation en biologie pas nécessaire, mais solide motivation pour le sujet et pour un stage expérimental requises.

Possibilité de poursuite en thèse : Oui

Financement envisagé : Bourse de l'École Doctorale Interfaces

Titre du stage : Mechanics of Phagocytosis

Résumé : Phagocytosis is the ingestion of a micron-scale target, such as a pathogen or a dead cell, by a specialized type of cell (a phagocyte), such as a macrophage or a neutrophil. This process is important in the immune response and in tissue remodeling and repair. When a phagocyte internalizes a target, it generates cell protrusions that spread over the target and eventually traps it in a phagosome, where enzymes will digest it. The efficiency of phagocytosis – how many targets a cell can phagocytize, and how fast it can do so– depends on the biochemical composition of the target, but also its shape [1] and stiffness [2]. During phagocytosis, a cell can generate mechanical forces on its target, up to 10 nanonewtons in a minute [3]. The relationship between (i) the geometrical and mechanical parameters of the target, (ii) the dynamics of force generation, and (iii) the phagocytosis efficiency are not yet understood.

The aim of this experimental M2 internship is to quantify forces generated by phagocytes depending on mechanical parameters of its target. This internship is a collaborative work between cell biologists (Oliver Nüsse's team, Laboratoire de Chimie Physique, UMR8000, CNRS-Université Paris-Sud) [4-6] and biophysicists (Julien Husson's team, LadHyX, École Polytechnique, Palaiseau) [7-12; see more at <http://cellmechanics.jimdo.com>].

Using a Micropipette Force Probe, a new technique which we have recently developed in the LadHyX (Fig. 1), and live microscopy, we will measure force generation during the phagocytosis of yeast cells by a phagocyte. We will vary the stiffness of the micropipette holding a yeast cell, and see how force generation depends of the effective stiffness of the target-spring system. This work should unravel important mechanisms involved in the mechanics of phagocytosis.

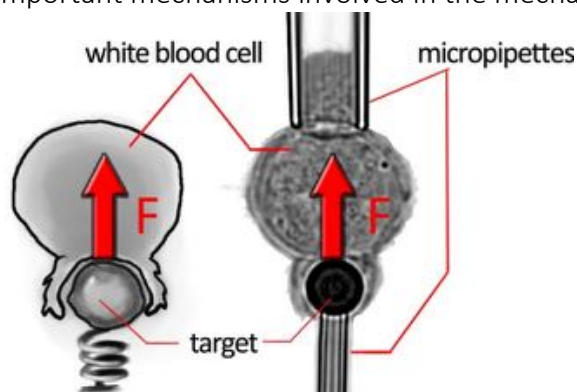


Figure 1. The Micropipette Force Probe allows measuring pushing and pulling forces generated by a white blood cell against a target (here an antibody-covered microbead). Left: schematic view of the device using a flexible micropipette as a spring. Right: bright-field microscopy image (J. Husson, LadHyX, see other micropipette-based devices here: <http://cellmechanics.jimdo.com/research/>).

References

[1] Champion, J. a, & Mitragotri, S. (2006). Role of target geometry in phagocytosis. *PNAS*, 103(13), 4930–4.



- [2] Beningo, K. A., & Wang, Y. L. (2002). Fc-receptor-mediated phagocytosis is regulated by mechanical properties of the target. *J Cell Sci*, 115(Pt 4), 849–856.
- [3] Evans, E., Leung, A., & Zhelev, D. (1993). Synchrony of cell spreading and contraction force as phagocytes engulf large pathogens. *The Journal of Cell Biology*, 122(6), 1295–300.
- [4] Tlili, A, Erard, M, Faure, M-C, Baudin, X, Piolot, T, Dupré-Crochet, S, Nüsse, O. (2012). Stable accumulation of p67phox at the phagosomal membrane and ROS production within the phagosome. *J. Leuk Biol.* 91(1):83-95
- [5] Dupré-Crochet, S, Erard, M, Nüsse, O. (2013). ROS Production in Phagocytes: Why, When and Where? *J. Leuk Biol.* 94:657-670
- [6] Faure, MC, Sulpice, J-C, Delattre, M, Lavielle, M, Prigent, M, Cuif, M-H, Melchior, C, Tschirhart, E, Nüße, O Dupré-Crochet, S. (2013). The recruitment of p47phox and Rac2G12V at the phagosome is transient and phosphatidylserine-dependent *Biol Cell* 105:1-18
- [7] Laan, L., Husson, J., Munteanu, E. L., Kerssemakers, J. W. J., & Dogterom, M. (2008). Force-generation and dynamic instability of microtubule bundles. *PNAS*, 105(26), 8920–5.
- [8] Husson, J., Chemin, K., Bohineust, A., Hivroz, C., & Henry, N. (2011). Force Generation upon T Cell Receptor Engagement. *PLoS ONE*, 6(5), e19680.
- [9] Bourouina N, Husson J, Waharte F, Pansu R. Formation of specific receptor-ligand bonds between liquid interfaces. *Soft Matter*. 2011;7:9130-9139.
- [10] Laan, L., Pavin, N., Husson, J., Romet-Lemonne, G., van Duijn, M., López, M. P., Vale R.D., Jülicher F., Reck-Peterson S. L., Dogterom, M. (2012). Cortical Dynein Controls Microtubule Dynamics to Generate Pulling Forces that Position Microtubule Asters. *Cell*, 148(3), 502–514.
- [11] Hogan, B., Babataheri, A., Hwang, Y., Barakat, A. I., & Husson, J. (2015). Characterizing Cell Adhesion by Using Micropipette Aspiration. *Biophysical Journal*, 109(2), 209–219.
- [12] Gonzalez-Rodriguez, D., Sart, S., Babataheri, A., Taresté, D., Barakat, A. I., Clanet, C., & Husson, J. (2015). Elastocapillary Instability in Mitochondrial Fission. *Physical Review Letters*, 115(8), 088102.

“PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE”

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

Adresse: Institut Curie, Centre de Recherche, 26 rue d’Ulm, 75005 Paris

Responsable de stage: Hervé Isambert, <http://umr168.curie.fr/en/isambertlab>

Email: herve.isambert@curie.fr

N° et intitulé de l’Ecole Doctorale de rattachement: Frontières du Vivant (FdV)

Profil recherché: Physicist or Computer scientist Master’s student with a strong interest in complex biological systems and advanced inference approaches. Good programming skills.

Possibilité de poursuite en thèse: Possibility to continue with a PhD project provided a PhD fellowship can be obtained.

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 datasets and also efficient inference methods. Yet, this context is now changing with the tremendous increase in available genomic and cellular data coming from next generation high-throughput techniques such as deep sequencing techniques, high content screening analyses, qPCR or RNA-seq single cell expression data, multicolor high-resolution fluorescence microscopy, light sheet microscopy, etc. This avalanche of quantitative multi-variable datasets now calls for the development of efficient information theoretic approaches to reliably reconstruct and analyze biomolecular networks from large scale experimental data. In particular, we expect, from our recent studies (1-5), that many statistically significant correlations in experimental 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 (4) combining constrain-based methods (6) and score-based, bayesian inference methods (7) 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 outperform both constrain-based and score-based as well as other hybrid inference methods (8) on benchmark networks. In addition, it was 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). These approaches will be adapted to reconstruct biological networks

from large scale experimental datasets from our collaborators at Institut Curie and beyond. In particular, we will work on the reconstruction of cellular networks from high content screening (HCS) image data (Thomas Walter, Institut Curie, Paris), the reconstruction of human brain networks from EEG data (Elisha Moses, Weizmann Institute, Rehovot) and the reconstruction of whole-brain neuron network of zebrafish (Debréguas lab, UPMC, Paris).

At broad systems level, we will use the Mediation analysis framework (9) 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 (10,11). 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 (12-15).

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 Singh PP, Affeldt S, Malaguti G, Isambert H. *Human dominant disease genes are enriched in paralogs originating from whole genome duplication*, **PLoS Comput Biol.**, **10**(7):e1003754 (2014).
- 3 P-P. Singh, J. Arora H. Isambert, *Identification of ohnolog genes originating from whole genome duplication in early vertebrates, based on synteny comparison across multiple genomes*, **PLoS Comput Biol.**, **11**(7):e1004394 (2015).
- 4 Affeldt S, Verny L, Isambert H *3off2: a network reconstruction algorithm based on 2-point and 3-point information statistics*, in press (2015).
- 5 G. Malaguti, P.P. Singh & H. Isambert, *On the retention of gene duplicates prone to dominant deleterious mutations*, **Theor Popul Biol**, **93C**:38-51 (2014).
- 6 Spirtes P, Glymour C, Scheines R., *Causation, Prediction, and Search* (Cambridge, The MIT Press, 2001).
- 7 Friedman N, *Inferring cellular networks using probabilistic graphical models* **Science**, **303**(5659):799-805 (2004).
- 8 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).
- 9 J. Pearl, *Causality: models, reasoning and inference* (New York: Cambridge University Press) (2009).
- 10 Cheong R, Rhee A, Wang CJ, Nemenman I, Levchenko A., *Information transduction capacity of noisy biochemical signaling networks*, **Science**, **334**(6054):354-8 (2011).
- 11 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).
- 12 R.R. Stein & H. Isambert, *Logistic map analysis of biomolecular network evolution*, **Phys Rev E**, **84**:051904 (2011).
- 13 K. Evlampiev & H. Isambert, *Conservation and Topology of Protein Interaction Networks under Duplication-Divergence Evolution*, **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, **105**, 9863-9868 (2008).
- 14 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).
- 15 A.L. Sellerio, B. Bassetti, H. Isambert & M. Cosentino Lagomarsino, *A comparative evolutionary study of transcription networks: The global role of feedback and hierachical structures*, **Mol. BioSyst.**, **5**(2), 170-9 (2009).

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire des Protéines et Systèmes Membranaires

Adresse : iBiTec-S, I2BC, CE Saclay, 91191 Gif sur Yvette

Directeur du laboratoire : Bruno Robert

Équipe de recherche (si pertinent) : Interactions with Biomembranes

Responsable de l'équipe : N.JAMIN

Responsable de stage : N.JAMIN/M.GARRIGOS

Adresse électronique : nadege.jamin@cea.fr/manuel.garrigos@cea.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED419, Biosigne

Profil recherché : Biologiste/biochimiste/biophysicien

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : Allocation de recherches MESR

Titre du stage : Expression hétérologue de transporteurs membranaires dans des vésicules chez *E.coli*

Résumé : L'objectif général de notre programme de recherche est de caractériser les réseaux d'interactions impliquant lipides et protéines à l'interface membranaire, au plan des propriétés structurales et fonctionnelles à l'échelle moléculaire. Dans ce cadre, nous étudions les interactions d'une petite protéine membranaire la cavéoline-1 (21 kDa) avec les membranes. Cette protéine est un marqueur des cavéoles, invaginations de la membrane plasmique impliquées dans de nombreuses fonctions vitales pour les cellules comme par exemple l'endocytose, la signalisation cellulaire, le transport lipidique ou la réponse au stress mécanique. Nous avons récemment montré que la surexpression chez *E.coli* de l'isoforme β de la cavéoline-1 et d'un fragment de cette protéine induit la formation de vésicules lipidiques de morphologie similaire aux cavéoles. Nous faisons l'hypothèse que la co-expression d'une protéine membranaire avec la cavéoline-1 puisse être une approche originale et fructueuse pour produire des protéines membranaires dans des vésicules chez *E.coli* sans l'utilisation de détergent qui peut affecter le repliement et la fonction de ces protéines. En particulier, les transporteurs membranaires sont nécessaires pour la prise, l'élimination et le trafic intracellulaire de nutriments et métabolites et, sont des composants clés pour la régulation de l'homéostasie cellulaire. Cependant, aucune structure 3D de transporteur humain et peu de structure de transporteur de mammifère ont été résolues. Ceci est du en partie aux difficultés de surexpression de ces protéines avec un repliement et fonctionnalité correctes. Comparer aux systèmes d'expression eucaryotes, les systèmes d'expression bactériens restent des systèmes de choix pour l'obtention de quantité importante de protéines, un pré-requis indispensable pour des études structurales.

Pendant le stage, nous proposons d'évaluer la possibilité d'exprimer un transporteur membranaire dans des vésicules induites par la cavéoline-1, d'étudier sa fonction et de caractériser les vésicules membranaires.

Les travaux de stage seront réalisés à l'Institut de Biologie et Technologies (Ibitech-S) du CEA Saclay dans le laboratoire des Protéines et Systèmes Membranaires.

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 / 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.*

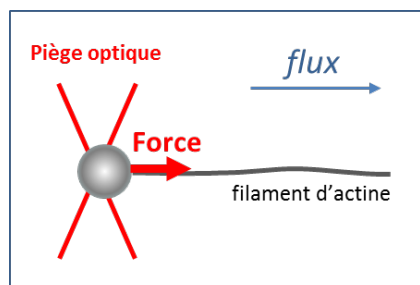
Profil recherché : Physicien-ne, chimiste ou biologiste, ouvert-e aux autres disciplines.

Possibilité de poursuite en thèse : Oui **Financements envisagés :** Ecoles Doctorales, ANR, HFSP.

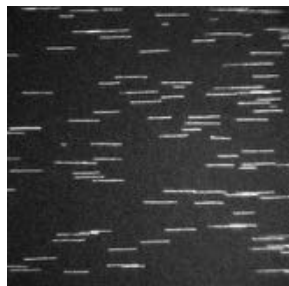
Résumé :

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.

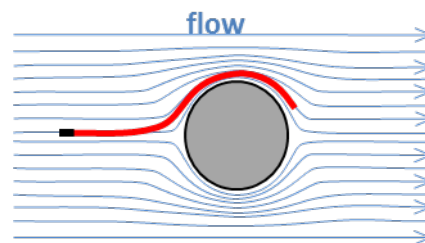
Depuis quelques années, des outils permettent d'observer directement ces mécanismes, à l'échelle de la molécule unique. Cela donne un éclairage nouveau sur les interactions entre protéines, et permet d'étudier plus en détail le rôle que joue leur environnement mécanique.



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, Shekhar *et al.*, *Nature Comm.* 2015), et que l'écoulement microfluidique est un moyen efficace et fiable de mettre les filaments sous tension mécanique (Jégou *et al.*, *Nat. Comm.* 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, (dé)stabilisent, fragmentent les filaments, ou encore les assemble en faisceaux. 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.

Page web de l'équipe : <http://www.actindynamics.net> - Site web de l'institut : <http://www.ijm.fr>

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE SBCP 2015»

Laboratoire : Laboratoire PMMH, ESPCI

Adresse : 10 rue Vauquelin, 75005 Paris

Responsable de stage : Evelyne KOLB, Pascal KUROWSKI

Email : evelyne.kolb@upmc.fr

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

Profil recherché : physicien, bio-physicien

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : Ecole doctorale

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

Résumé :

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

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

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



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

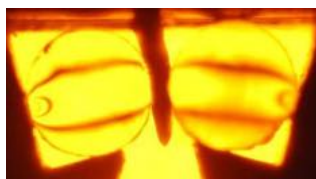


Fig. 2 : Croissance d'une racine de pois-chiche ($\phi \approx 1$ mm) entre deux disques photoélastiques. La force latérale exercée par la racine sur les disques est mesurable à partir de la localisation des franges noires dans les disques.

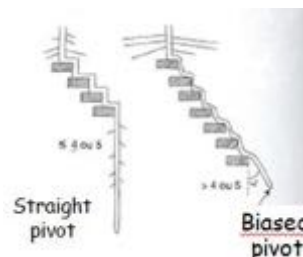


Fig. 3: Observations qualitatives sur des racines d'arbres [d'après Institut pour le développement forestier]. Différentes trajectoires de croissance sont possibles en fonction du nombre d'obstacles rencontrés par la racine.

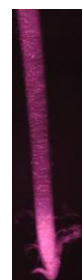


Fig.4 : Imagerie d'une racine en proche IR [d'après thèse de F. Bizet, 2014. Nancy].

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire: Institut Fresnel, Université Aix-Marseille
Faculté de St Jérôme, Av Escadrille-Nieman 13013 Marseille

Responsable de stage : Loïc Le Goff. **Email :** loic.le-goff@univ-amu.fr

Profil recherché : Expérimentateur. Biophysique, matière molle ou optique

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED 352 (Physique) de l'Université Aix-Marseille

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : ED 352

The mechanics of a growing tissue: *in vivo* measurements.

The MOSAIC team at Institut Fresnel gathers physicists and biologists to tackle biological questions from a physics and engineering point of view (<http://www.fresnel.fr/spip/spip.php?rubrique64>).

We investigate how biological tissues shape themselves, addressing how the interplay between growth and mechanical forces orchestrate the size and shape of tissues. Using cutting edge optical techniques, we image these tissues *in vivo* –a unique feat giving us access to their full geometry at cellular resolution (Figure). Using tools from soft matter and statistical physics we then address the orchestration of cell movements and cell growth by mechanical forces [1-4].

The goal of the project is to develop an all-optical approach to characterize the mechanics of growing tissues. The student will build a custom-designed optical microscope for deep tissue imaging in *Drosophila* developing tissues. He/she will then use the microscope to quantify the stresses and strains arising in the developing tissues, so as to address the two following questions: 1-How does growth affect the mechanics of the tissue? 2-Conversely, does the mechanics (in particular the distribution of mechanical stress) alter cell physiology?

The student will be supervised by a physicist with a long-standing interest in developmental mechanics (LLG). Further expertise in optics will be provided by members of the MOSAIC team (H. Rigneault and S. Monneret).

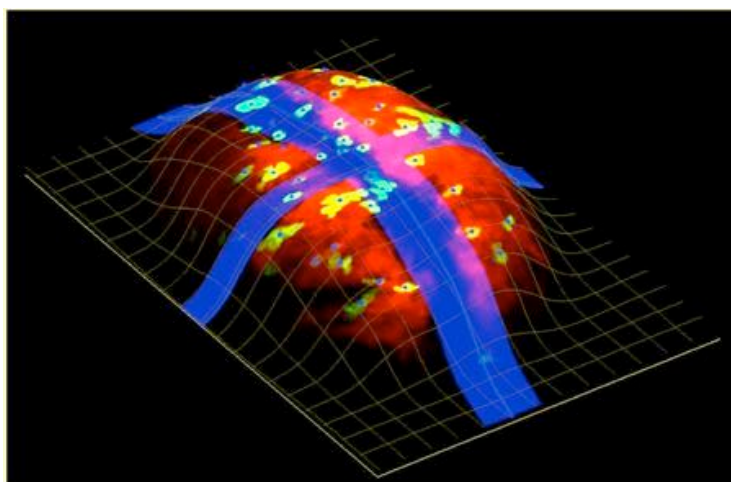


Figure: We image developing tissues inside living Drosophila (here the developing wing). One of our goals is to measure the mechanical stresses and strains that arise during the growth of the tissue

The student may focus on various aspects of the project depending on his/her interest:

-**Biophysics:** mechanical measurements on the growing tissue; understanding how growth and cell divisions contribute to the specific mechanics.

-**Optics:** implementation of an adaptive optics microscope that uses deformable mirrors to reduce optical aberrations for *in vivo* imaging.

-**Biology:** mechanical regulation of the signalling pathways that regulate growth (Hippo pathway, etc).

References:

1. Lecuit T, Le Goff L (2007) Orchestrating size and shape during morphogenesis. *Nature*. 450:189–192.
2. LeGoff L, Rouault H, Lecuit T (2013) A global pattern of mechanical stress polarizes cell divisions and cell shape in the growing *Drosophila* wing disc. *Development* 140:4051–4059.
3. Heemskerk I, Lecuit T, LeGoff L (2014) Dynamic clonal analysis based on chronic *in vivo* imaging allows multiscale quantification of growth in the *Drosophila* wing disc. *Development* 141:2339–2348.
4. LeGoff L., Lecuit T. (2015) Mechanical forces and growth in animal tissues. *Cold Spring Harb Perspect Biol* doi: 10.1101/cshperspect.a019232

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire de Chimie Physique, UMR 8000

Adresse : Faculté des Sciences, Université Paris-Sud, Bât 350, Orsay Cedex Cedex 91405

Directeur du laboratoire : Philippe MAITRE

Équipe de recherche (si pertinent) : Groupe de Biophysique, Equipe de Biochimie des flavoprotéines

Responsable de l'équipe : Laura BACIOU

Responsable de stage : Florence LEDERER

Adresse électronique : florence.lederer@u-psud.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : 2MIB, Département de Chimie, Paris-Saclay

Profil recherché : biochimiste, chimiste

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : bourse Ecole Doctorale

Titre du stage : Caractérisation d'un complexe transitoire entre deux protéines de transfert d'électrons

Résumé : Le sujet proposé se place dans le cadre de l'étude des complexes transitoires en biologie, dont on perçoit de plus en plus l'intérêt.

Le flavocytochrome b_2 de levure est composé de deux domaines de repliement sur une chaîne peptidique: un domaine à flavine qui oxyde le L-lactate, substrat physiologique, et un domaine à hème b_2 , qui transmet au cytochrome c les équivalents réducteurs reçus de la flavine. Des structures cristallographiques et des expériences en solution avec l'enzyme sauvage et des mutants suggèrent que l'interaction entre les deux domaines de la protéine est transitoire à cause de la mobilité du domaine à hème, tout en impliquant un phénomène de reconnaissance pour que le transfert d'électrons puisse avoir lieu. La construction de mutants sur une partie de la surface du domaine à hème a permis de définir la localisation de l'aire de reconnaissance entre les domaines et l'importance de certaines interactions (1, 2). Nous postulons maintenant que c'est cette même aire de reconnaissance qui doit interagir avec le cytochrome c .

Le projet utilisera ces mutants pour localiser l'aire de reconnaissance entre le domaine b_2 et le cytochrome c . On aura recours à de la spectrophotométrie (cinétique à l'état stationnaire et préréactionnelle (stopped-flow)) après purification de protéines recombinantes (sauvage et mutée) (cultures de bactéries transformées, extraction, chromatographie, électrophorèse). On utilisera aussi la résonance plasmonique de surface (Biacore), l'ITC ainsi que le graphisme moléculaire.

Le travail permettra de valider l'hypothèse que le domaine hémique du flavocytochrome b_2 alterne entre sa réductase (le domaine à flavine auquel il est attaché par la chaîne peptidique) et son oxydase, le cytochrome c (3).

1. Lê, K. H. D., Boussac, A., Frangioni, B., Léger, C., and Lederer, F. (2009) Interdomain Contacts in Flavocytochrome b_2 , a Mutational Analysis, *Biochemistry* 48, 10803-10809.

2. Lê, K. H. D., Lederer, F., and Golinelli-Pimpaneau, B. (2010) Structural evidence for the functional importance of the heme domain mobility in flavocytochrome b_2 , *J. Mol. Biol.* 400, 518-530.

3. Lederer, F. (2011) Another look at the interaction between mitochondrial cytochrome c and flavocytochrome b_2 , *Eur. Biophys. J.* 40, 1283-1299.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Institut Pasteur - Paris - UMR 3691

Adresse : 25 rue du docteur Roux, 75015 Paris

Responsable de stage : Cécile LEDUC

Email : cecile.leduc@pasteur.fr

**N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED 515 - Complexité du vivant
ED 474 - Frontières du vivant**

Profil recherché : Biophysicien intéressé par la microscopie et le cytosquelette

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : Bourse de l'ED

Titre du stage : Reconstitution in vitro de la dynamique des filaments intermédiaires de vimentine

Résumé :

Les filaments intermédiaires (FIs) constituent l'un des trois principaux types du cytosquelette des cellules animales avec les filaments d'actine et les microtubules, mais ils restent les moins bien compris. Ils semblent pourtant jouer un rôle important dans des mécanismes aussi divers que l'organisation, la mécano-transduction ou la signalisation cellulaire. Par ailleurs, plus de 95 maladies ont été liées à des mutations des protéines de FIs. Dans certains cas, la maladie découle d'une altération de leurs propriétés mécaniques et d'autres fonctions importantes des FIs peuvent aussi être touchées. Il a aussi été montré que le niveau d'expression des protéines de FIs augmente de façon spectaculaire dans les glioblastomes, principaux et très agressifs cancers du cerveau. Cette surexpression est corrélée avec des capacités de migration et d'invasion grandement accrues. Pour toutes ces raisons, il est essentiel d'étudier les propriétés biophysiques des FIs et comprennent comment ces propriétés sont intégrées dans la cellule.

D'un point de vue structurel, les FIs résultent de l'auto-assemblage des protéines fibrillaires qui les constituent pour former des filaments de 10 nm de diamètre, entre celui des microtubules et des filaments d'actine. Mais contrairement aux autres cytosquelettes, cet assemblage est passif. Les FIs sont les plus flexibles des trois types de filaments et ont aussi cette capacité unique de pouvoir être étiré sur des distance jusque 3 fois leur longueur. Enfin, il existe une grande variété de familles de protéines de FIs (~70 gènes chez les humains) qui sont exprimées avec une composition spécifique suivant le type cellulaire et leur degré de différenciation, démultipliant d'autant les propriétés possibles de ces filaments (Leduc and Etienne-Manneville, Cur. Op. Cell Biol 2015).

Le but du stage est de reconstituer in vitro la dynamique des filaments intermédiaires de vimentine en utilisant des techniques de molécules individuelles fondées sur la microscopie de fluorescence (TIRF). En partant de protéines purifiées et marquées, la croissance de filaments uniques sera suivie en direct in situ dans différentes conditions. Ces expériences permettront de caractériser en détails les différentes étapes d'assemblage des filaments : formations d'ULF, unit length filament ; fusion des ULF et maturation des filaments (Figure). Pour des mesures précises de longueurs de filaments au cours du temps, un système de microfluidique sera mis en place, en collaboration avec le groupe de Guillaume Romet-Lemonne et Antoine Jegou à l'institut Jacques Monod. Ce système a été mis au point et utilisé avec succès pour mettre sous tension des filaments d'actine (Jegou et al, Plos Biol 2011 ; Jegou et al, Nature Comm 2013).

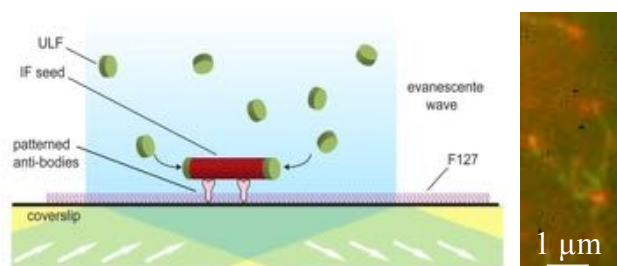


Figure : L'élongation de filaments individuels de vimentine sera étudiée par microscopie de fluorescence de type TIRF et un marquage à deux couleurs des monomères. ULF : unit length filament correspond à l'unité de base d'assemblage des filaments.

Le stage aura au sein de l'unité Polarité Cellulaire, Migration et Cancer dirigée par Sandrine Etienne-Manneville.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire de Physique des Lasers, Atomes, Molécules, UMR CNRS/U. Lille 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

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. Pour anticiper les variations périodiques de leur environnement qui en résultent, beaucoup ont développé une horloge circadienne, un réseau de gènes et de protéines qui engendre 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 d'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, ...). 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 le métabolisme, 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/OU DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire de Physique Théorique et Modèles Statistiques (LPTMS) – UMR 8626

Adresse : Orsay (à 3 minutes à pied du RER Orsay-ville)

Responsable de stage : Martin Lenz - <http://lptms.u-psud.fr/membres/mlenz/>

Email : martin.lenz@u-psud.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : EDPIF (ED 564)

Profil recherché : théoricienne / théoricien

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : oui

Frustration géométrique de l'ADN dense

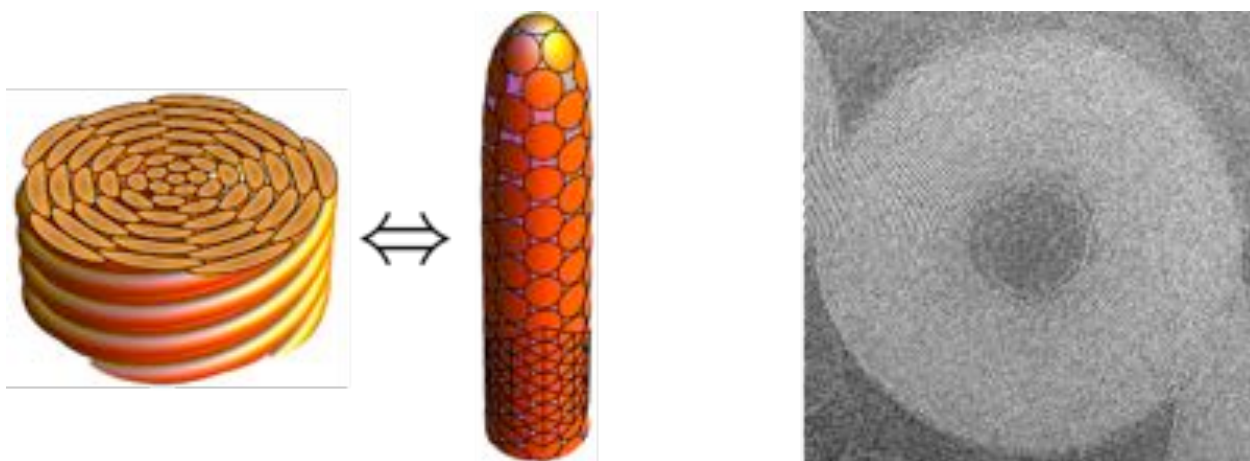
L'auto-assemblage des virus est un processus remarquable, notamment par le fait qu'il résulte en la compaction de leur génome à des densités extrêmes. Dans ces assemblages denses, le caractère hélicoïdal des filaments d'ADN induit une **frustration géométrique** aujourd'hui mal comprise, et qui pourrait avoir une influence sur la cinétique de l'infection virale.

Ce projet vise à interpréter certaines observations expérimentales récentes sur la géométrie d'empaquetage d'ADN viral sous forme de tores. Le stagiaire/doctorant utilisera des outils théoriques récents consistant à réinterpréter la frustration géométrique des filaments comme un problème de **pavage optimal d'une variété non-Euclidienne par des disques**. Ces approches purement géométriques seront **enrichies de modèles des interactions physiques** mises en jeu **issus de la mécanique statistique et de la matière molle**.

À plus long terme, le doctorant relaxera les hypothèses sous-tendant les modèles actuels d'empaquetage de filaments chiraux pour coupler la dépendance de l'orientation des filaments (qui dicte la métrique de la variété non-Euclidienne) à leur densité. L'équation résultante sera ainsi conceptuellement **analogue à l'équation d'Einstein de la relativité générale**, et exploitera les résultats qui lui sont associés dans des cas concrets en rapport avec les expériences.

Demandes de contact informel bienvenues.

Des offres de thèse sont également disponibles sur les autres sujets d'intérêt du groupe (voir site web).



Gauche: Compacter des filaments chiraux revient à arranger des disques en géométrie courbe.

Droite: Micrographes de tores d'ADN du groupe de F. Livolant (LPS Orsay)

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Institut de Chimie des Substances Naturelles

Adresse : 1 avenue de la Terrasse 91190 Gif-sur-Yvette

Directeur du laboratoire : Angela MARINETTI

Équipe de recherche (si pertinent) : Biologie et Chimie Structurales

Responsable de l'équipe : Eric GUITTET

Responsable de stage : Ewen LESCOP / Nadine ASSRIR

Adresse électronique : ewen.lescop@cnrs.fr (01 69 82 37 64)

Co-Responsable de stage : Tâp Ha-Duong tap.ha-duong@u-psud.fr (BioCIS, Châtenay-Malabry)

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED425 Innovation thérapeutique

Profil recherché : Biophysicien avec un intérêt dans la caractérisation dynamique et structurale de protéine et le développement d'inhibiteur dans le contexte du cancer.

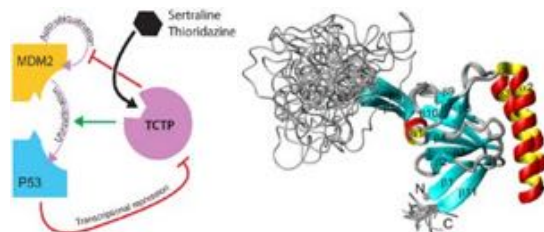
Possibilité de poursuite en thèse : OUI – NON (à définir)

Si oui, financement envisagé : Ecole Doctorale et autres

Titre du stage : Caractérisation du mode d'interaction entre la protéine TCTP, une protéine impliquée dans la réversion tumorale, et des ligands d'intérêt thérapeutique. Approche par RMN et modélisation moléculaire.

Résumé :

La protéine *Translationally Controlled Tumor Protein* (TCTP), très conservée chez la plupart des eucaryotes, intervient dans plusieurs fonctions biologiques liées au cycle cellulaire, notamment l'activité anti-apoptose et la division cellulaire [1]□. TCTP joue également un rôle central dans le processus de réversion tumorale qui permet aux cellules cancéreuses de perdre leurs phénotypes malins. Le mécanisme de ce programme biologique fait intervenir les protéines MDM2 et p53 selon le schéma suivant : TCTP se lie à l'ubiquitine ligase MDM2 et empêche son auto-ubiquitination, inhibant son adressage au protéasome pour dégradation. En conséquence, l'ubiquitination par MDM2 de p53 est augmentée, favorisant la dégradation de cette protéine clé du processus d'apoptose. En outre, p53 interagit avec le promoteur du gène de TCTP et constitue un répresseur de sa transcription. Sa dégradation dans les cellules cancéreuses crée donc une boucle de rétroaction amplificatrice entre TCTP et p53 [2]□.



Mécanisme biologique de réversion tumorale impliquant les trois protéines TCTP, MDM2 et p53 (gauche). Structure tridimensionnelle de la protéine humaine TCTP résolue par RMN (droite).

Il a été prouvé que l'inhibition par *siRNA* de l'expression du gène de TCTP augmente le niveau basal de la protéine p53 et conduit à l'apoptose des cellules cancéreuses et à la réversion tumorale [2]□. Par ailleurs, des médicaments antihistaminiques ou neuroleptiques ont également montré des capacités à tuer des cellules cancéreuses en inhibant l'activité de TCTP sur la protéine MDM2. Parmi ces molécules, il a été démontré que la sertaline et la thioridazine se lient directement à TCTP [3]□.

La structure tridimensionnelle de la protéine humaine TCTP en solution a été résolue par RMN (code PDB : 2HR9) [4]. Elle est constituée d'un domaine central composé de neuf brins β , d'un domaine composé de deux hélices α et d'une longue boucle intrinsèquement désordonnée. Cette dernière contient des acides aminés très conservés qui définissent une signature des TCTP. Par ailleurs, d'après des expériences de mutagenèse dirigée, deux sérines situées dans cette boucle jouent un rôle crucial dans l'interaction avec la sertraline [3]. Cependant le mode d'association et le mécanisme d'action de cette dernière sont loin d'être connus en détail et aucune donnée structurale n'est encore disponible.

L'objectif premier du stage sera de déterminer précisément le site encore inconnu de fixation de la sertraline ou un de ses analogues sur TCTP. Pour ce faire, le travail consistera à produire et purifier la protéine marquée en ^{15}N et ^{13}C suivant un protocole déjà en place, puis à analyser l'évolution des spectres RMN de la protéine en présence du ligand. Une attention particulière sera portée à l'éventuelle influence du ligand sur la structuration et la dynamique de la boucle intrinsèquement désordonnée de TCTP. Il/elle bénéficiera d'un accès privilégié au parc exceptionnel de spectromètres de l'ICSN dont le 950MHz et le 800MHz.

Dans un second temps, sur la base des résultats obtenus par RMN, l'étude expérimentale sera complétée par un travail de modélisation moléculaire des formes isolées et complexées de TCTP, afin de caractériser à l'échelle atomique les interactions du ligand avec son site de fixation, et son influence sur la dynamique conformationnelle de TCTP, notamment de sa boucle désordonnée. Ce travail permettra de rationaliser le mode d'action de la sertraline et de proposer d'éventuelles pharmacomodulations pour concevoir des ligands de plus haute affinité et spécifiques de TCTP.

[1] Bommer U-A, Thiele B-J: The translationally controlled tumour protein (TCTP). *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2004, 36:379–385.

[2] Tuynder M, Fiucci G, Prieur S, Lespagnol A, Ge A, Susini L, Cavarelli J, Moras D, Amson R, Duflaut D, et al.: Translationally controlled tumor protein is a target of tumor reversion. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 2004, 101:15364–15369.

[3] Amson R, Pece S, Lespagnol A, Vyas R, Mazzarol G, Tosoni D, Colaluca I, Viale G, Rodrigues-ferreira S, Wynendaele J, et al.: Reciprocal repression between P53 and TCTP. *Nat. Med.* 2012, 18:91–99.

[4] Feng Y, Liu D, Yao H, Wang J: Solution structure and mapping of a very weak calcium-binding site of human translationally controlled tumor protein by NMR. *Arch. Biochem. Biophys.* 2007, 467:48–57.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Institut de Chimie des Substances Naturelles

Adresse : 1 avenue de la Terrasse 91190 Gif-sur-Yvette

Directeur du laboratoire : Angela MARINETTI

Équipe de recherche (si pertinent) : Biologie et Chimie Structurales

Responsable de l'équipe : Eric GUITTET

Responsable de stage : Ewen LESCOP / Nadine ASSRIR

Adresse électronique : ewen.lescop@cnrs.fr (01 69 82 37 64)

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED425 Innovation thérapeutique

Profil recherché : Biophysicien avec un intérêt dans la caractérisation physico-chimique, dynamique et structurale de protéine.

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : Ecole Doctorale et autres

Titre du stage : Mettre la pression sur des enzymes multidomaines : quelle sera leur réaction ?

Résumé :

La grande majorité des protéines eucaryotes sont multi-domaines, et proviennent souvent de la fusion sur un même gène de domaines existant isolément dans les organismes dits moins évolués. Ce phénomène évolutif a permis par exemple la création de nouvelles réactions complexes par l'apparition d'enzymes modulaires ou une régulation plus fine des fonctions biologiques. Malheureusement, à l'heure actuelle, notre compréhension de la biologie structurale de protéines modulaires reste encore limitée car leur dynamique intrinsèque rend leur étude compliquée. En effet, les contacts entre domaines dans les protéines multi-domaines peuvent n'être que temporaires et n'exister que pendant une fraction de temps. Or, ces contacts transitoires peuvent être suffisants pour transmettre molécule ou information entre domaines. Par conséquent, la question de la communication entre domaines dans de tels édifices est fondamentale pour mieux comprendre leur mécanisme et leur évolution mais aussi pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques ou pour créer de nouvelles molécules.

Pour mieux caractériser l'état conformationnel des protéines multidomaines solubles, il est nécessaire de les étudier en solution afin de conserver la nature et la stabilité des interfaces. Nous développons donc au laboratoire des méthodologies basées exclusivement sur des techniques en solution (RMN, SAXS, Thermal Shift, ...) dans l'objectif de pouvoir décrire le lien existant entre communication interdomaine et activité enzymatique. Nous avons commencé par poser de solides bases sur un système simple représenté par la cytochrome P450 réductase (CPR), une enzyme à deux domaines, avant de s'attaquer à la NO synthase (NOS) une enzyme plus complexe. Nous avons ainsi récemment développé sur la CPR une approche innovante basée sur la collecte de données structurales et enzymatiques dans plusieurs conditions de pH et de force ionique grâce auxquelles nous avons pu établir qu'il existe un optimal de durée de vie moyenne des contacts entre domaines pour que la CPR

soit le plus efficace, suggérant qu'un contrôle fin de la stabilité de l'interface suffise pour contrôler son activité.

Nous souhaitons maintenant démontrer que ce concept de contrôle de la stabilité des interfaces s'applique également à l'enzyme NOS dont les trois isoformes sont impliquées dans de nombreuses pathologies humaines (cardiovasculaires, neurodégénératives, cancer, etc...). Ceci poserait des bases pour développer des stratégies thérapeutiques originales limitant les effets secondaires. Les NOS contiennent trois domaines connectés entre eux et forment un dimère : bien que fortement apparentées, cette famille d'enzymes est cependant bien plus complexe que la CPR. La caractérisation des NOS va donc requérir une étude plus poussée (avec un sujet de thèse envisageable). Dans un premier temps, notre objectif sera d'étendre, au-delà de la force ionique et du pH, la panoplie de paramètres physico-chimiques jouant sur l'état conformationnel. Il est connu que l'application de haute pression hydrostatique permet de modifier significativement la structure des protéines, or ceci n'a jamais été appliqué à des protéines multidomaine. **L'objectif du stage de M2 sera donc de caractériser par RMN l'effet de la haute pression (jusqu'à 2500 bars) sur l'équilibre conformationnel de la CPR.** Ce travail donnera un résultat triple: (1) améliorer notre compréhension générale des effets de la haute pression sur des protéines modulaires, (2) disposer d'un nouvel outil pour caractériser finement la structure et la dynamique des sous-états d'enzymes multidomaine dans des conditions « physiologiques » et (3) établir une corrélation entre l'état conformationnel et l'activité de ce type d'enzyme.

Le stagiaire produira l'échantillon, incluant un marquage isotopique de pointe (deutération/reprotonation des alanines). La production et purification de la CPR sont très bien maîtrisées au laboratoire. Le stagiaire effectuera et analysera ensuite les expériences 2D-HMQC et de relaxation RMN à plusieurs valeurs de pressions pour déterminer l'effet de la pression sur la stabilité de l'interface interdomaine dans la CPR. Il/elle bénéficiera d'un accès privilégié au parc exceptionnel de spectromètres de l'ICSN dont le 950MHz.

Références de l'équipe sur le sujet

1. Vincent B, Morellet N, Fatemi F, Aigrain L, Truan G, Guittet E, **Lescop E**. The closed and compact domain organization of the 70-kDa human cytochrome P450 reductase in its oxidized state as revealed by NMR. J Mol Biol. (2012) 420(4-5):296-309.
2. Aigrain L, Fatemi F, Frances O, **Lescop E**, Truan G. Dynamic control of electron transfers in diflavin reductases. Int J Mol Sci. (2012) 13(11):15012-41 (revue)
3. Frances O, Fatemi F, Pompon D, Guittet E, Sizun C, Pérez J, **Lescop E**, Truan G. A well-balanced pre-existing equilibrium governs maximal electron flux efficiency of a multidomain diflavin reductase. Biophysical J (2015) 108(6):1527-36

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Laboratoire de Reproduction et Développement des Plantes (RDP) <http://www.ens-lyon.fr/RDP/?lang=en>

Adresse : ENS de Lyon, 46, allée d'Italie, 69364 LYON Cedex 07, France

Responsable de stage : Prof. Arezki BOUDAUD, Dr. Yuchen LONG

Email : arezki.boudaoud@ens-lyon.fr, yuchen.long@ens-lyon.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : BMIC ED 340

Profil recherché : biophysique

Possibilité de poursuite en thèse : oui/non

Financement envisagé : ED

Titre du stage : Unravelling the regulation and function of hydrostatic pressure in morphogenesis at the shoot apex of *Arabidopsis thaliana*

Résumé :

Morphogenesis is the remarkable process whereby a developing organism acquires its shape. While molecular and genetic studies have been highly successful in explaining the cellular basis of development and the role of biochemical signals in coordinating cell fate, understanding morphogenesis remains a challenge. Indeed, shape is imposed by structural elements, so that an investigation of morphogenesis must also address how these elements are controlled at the cell level, and how the mechanical properties of these elements lead to specific growth patterns.

Using the shoot apical meristem of *Arabidopsis thaliana* as a model system, our team tackles the following questions: Does cell identity correspond to mechanical identity? Do the mechanical properties of different cell domains predict shape changes? How does the intrinsic stochasticity of cell mechanics and cell growth yield reproducible shapes? To address these questions, we combine molecular biology, live imaging with confocal microscopy, and atomic force microscopy.

Turgor (hydrostatic) pressure is essential in plant cell mechanics; however it is unknown how it contributes to regulating morphogenesis. This question will be addressed during the internship. The student will contribute to (i) the generation of transgenic plant lines to manipulate temporally and spatially turgor and water flow, (ii) the characterisation of these lines using macroscopic and microscopic observations, (iii) confocal and atomic force microscopy of wild type plants and transgenic plants.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Unité de Bioinformatique Structurale, UMR 3528 CNRS et Institut Pasteur

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

Directeur du laboratoire : Michael Nilges

Équipe de recherche (si pertinent) :

Responsable de l'équipe :

Responsable de stage : Thérèse Malliavin

Adresse électronique : terez@pasteur.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : Complexité du Vivant - ED 515, UPMC

Profil recherché : bioinformaticien, physicien computationnel

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : Ministère de la Recherche

Titre du stage : Analyse de la transition fonctionnelle d'histidine kinases en utilisant une approche d'échantillonnage augmenté

Résumé :

Les systèmes à deux composants (TCSs) sont utilisés de manière ubiquitaire par les prokaryotes comme senseurs et moyens de réponse à des conditions environnementales très variées. Un système à deux composants est formé de deux protéines, un senseur histidine kinase (HK) et un régulateur de réponse (RR). La grande majorité des HKs sont des protéines membranaires homodimériques dans lesquelles la région cytoplasmique contient deux domaines fonctionnels distincts: un domaine N-terminal de dimérisation et de phosphotransfer d'histidine (DHp) et un domaine C-terminal catalytique et de liaison à l'ATP (CA). Un domaine HAMP peut aussi être présent avec le domaine DHp. La transmission d'information du senseur vers RR est réalisée via la variabilité conformationnelle de HAMP et de DHp. Ces domaines dimérisent suivant des architectures coiled-coil, et les mouvements de rotation, de ciseau et de piston des hélices ont été proposés d'être sous-jacents à la variabilité conformationnelle.

Le projet proposé a l'intention d'utiliser des méthodes d'échantillonnage augmenté pour étudier la transition entre les différents états enzymatiques de HK impliqués dans la transmission du signal perçu. L'échantillonnage augmenté sera réalisé en utilisant la dynamique moléculaire accélérée par la température (TAMD) sur l'HK CpxA.

Un aspect critique de l'utilisation de la TAMD est le choix des variables collectives utilisées comme coordonnées de réaction pour décrire la transition conformationnelle visée. Ces variables collectives seront déterminées à partir de l'analyse de structures coiled-coil de la Protein Data Bank (PDB). Elles seront ensuite validées lors d'une étude par échantillonnage augmenté des domaines centraux (DHp et/ou HAMP) des HKs DesK et CpxA, comparant les transitions observées le long des trajectoires de dynamique moléculaire avec les différentes structures de ces protéines. La plus petite taille des domaines centraux permettra d'améliorer l'efficacité de la recherche conformationnelle.

Références:

- 1) Bouvier G, Duclert-Savatier N, Desdouits N, Meziane-Cherif D, Blondel A, Courvalin P, Nilges M and Malliavin T. Functional motions modulating VanA ligand binding unraveled by self-organizing maps. J Chem Info Model 54, 289-301 (2014).
- 2) Cortes-Ciriano I, Bouvier G, Nilges M, Maragliano L and Malliavin TE. Temperature Accelerated Molecular Dynamics with Soft-Ratcheting Criterion Orients Enhanced Sampling by Low-Resolution Information. J. Chem. Theory Comput., in press, Publication Date (Web): May 20, 2015 (Article) DOI: 10.1021/acs.jctc.5b00153

- 3) Hosseini Naveh ZM, Malliavin TE, Maragliano L, Cottone G, Ciccotti G. Conformational changes in acetylcholine binding protein investigated by temperature accelerated molecular dynamics. PLoS One 9, e88555 (2014).
- 4) Martinez M, Duclert-Savatier N, Betton JM, Alzari PM, Nilges N and Malliavin TE. Unstability in the HAMP domain induces a destabilisation of the auto-phosphorylation site in the histidine kinase, en révision.
- 5) Selwa E, Huynh T, Ciccotti G, Maragliano L, Malliavin TE. Temperature-accelerated molecular dynamics gives insights into globular conformations sampled in the free state of the AC catalytic domain. Proteins 82, 2483-2496 (2014a).

« PROPOSITION DE STAGE ET DE THÈSE »

Laboratoire : UMR144 Compartimentation et Dynamique Cellulaires, CNRS-Institut Curie

Adresse : 26 rue d'Ulm 75248 Paris cedex 05

Responsable de stage : Jean-Baptiste Manneville

Email : Jean-Baptiste.Manneville@curie.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED515 Complexité du Vivant

Profil recherché : Formation double en physique (optique, microscopie) et biologie (culture cellulaire)

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : ED ou programme IPV

Titre du stage : Mechanical constraints and intracellular transport

Résumé :

Tumour cells are characterized by abnormal migratory and proliferative properties. Many cellular functions, such as cell migration, cell division, cell-cell adhesion and cell polarity, are deregulated during the development of cancers. Intracellular transport is at the heart of these functions since it allows the synthesis, the maturation and the export of molecules required for normal cell behaviour. During tumour development, several transport routes and the expression of proteins regulating intracellular transport, for instance Rab proteins or molecular motors, are affected. These alterations in membrane trafficking can in turn impact on other cellular functions. Positive feedback loops could then amplify the effects and lead to the deregulations typical of cancers. As an example, defects in the transport of cell-cell adhesion molecules such as cadherins could affect cell migration and cell polarity.

In recent years, the mechanical properties of the tumour microenvironment have been shown to play a central role in tumour development. During tumour growth, the rigidity of the extracellular matrix increases and external constraints are applied on tumour cells. Confining forces are transmitted to the inside of the cells via mechanosensitive modules, such as focal adhesions or adherens junctions, and the cytoskeleton. Cells respond by adapting their mechanics and their intracellular signalling. Here again, positive feedback loops could be involved in tumour development

During this internship, we will ask whether and how mechanical constraints exerted by the tumour microenvironment can impact on intracellular transport and participate to tumour development. The project will be centred on the transport downstream of the Golgi apparatus. The Golgi apparatus is at the crossroads between the secretory pathway and the endocytic pathway and is therefore essential for membrane trafficking. The Golgi apparatus has recently been implicated in the development of several cancers. In particular, the Golgi-localized small G-protein Cdc42, a master regulator of cell polarity, and the Golgi matrix protein GM130 have been targeted in anticancer therapies. We have recently shown, using an intracellular microrheology technique based on the micromanipulation of internalized microspheres with optical tweezers, that a mechanical constraint directly applied from the cell interior on the Golgi apparatus reduces post-Golgi transport by delaying the fission of budding vesicles from the Golgi apparatus [1]. In this project we will focus on the effects of external constraints mimicking the tumour microenvironment on intracellular transport. We will ask whether an external constraint is transmitted to the Golgi apparatus and how it affects the mechanics of the Golgi apparatus, the transport downstream of the Golgi apparatus and secretion. We will use the recently developed RUSH system (in collaboration with Franck Perez, Institut Curie) to synchronise membrane trafficking and study different model proteins in the secretory pathway, starting with GPI-anchored proteins and cadherin, stably expressed in RPE-1 cells plated on micropatterns. Deformable micropatterns and the cell confiner device (developed in the laboratory of Matthieu Piel, Institut Curie) will be used to apply an external constraint on the cells.

[1] Guet, Mandal et al. Mechanical role of actin dynamics in the rheology of the Golgi complex and in Golgi-associated trafficking events. *Current Biol* **24**, 1700-11 (2014)

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Génétique Quantitative et Évolution

Adresse : Gif-sur-Yvette

Responsable de stage : Olivier MARTIN et Matthieu FALQUE

Email : olivier.martin@moulon.inra.fr et falque@moulon.inra.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : Structure et Dynamique des Systèmes Vivants

Profil recherché : modélisateur, numéricien, théoricien

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : IDEX, ED SDSV, ED Frontières du Vivant, Cifre, LabEx

Titre du stage : Unleashing genetic value by increased meiotic recombination

Résumé : Boosting crop improvement largely depends on breeders' ability to harness genetic variation in germplasm, ancient varieties or even undomesticated species. Grasping such genetic variations requires the shuffling of parental alleles, a process that arises during meiosis through the formation of crossovers (COs). However, the low number and uneven distribution of meiotic COs along chromosomes strongly limits the genetic variation that can be captured in plant breeding programs; severe linkage drag is probably the main impediment to current crop improvement efforts.

Our overall objective is to quantify the benefits of enhancing meiotic recombination as a tool to improve and accelerate the production of new crop varieties. Such enhancements (reaching 9 fold increases in numbers of crossovers per meiosis) are currently available in model plants such as *Arabidopsis thaliana* and are in the process of being transferred to major crops.

The framework used in this project relies on **quantitative genetics** and the **infinitesimal model** for specifying genetic and phenotypic properties. The study of the dynamics of the stochastic processes at work will use mathematical methods and computation, with the goal of determining the best strategy to maximize the benefits of enhanced recombination and modified recombination profiles along chromosomes. At a qualitative level, getting access to a small favourable genomic region lying in an otherwise unfavourable surrounding context requires having two close-by crossovers occurring in one meiosis. Achieving that in wild-type organisms is nearly impossible because of the low crossover rates and the presence of crossover interference. The genetic constructions performed in *Arabidopsis* are not only expected to raise many fold the recombination rates in other plants but should also remove crossover interference, a key point for reducing linkage drag. The hoped outcome of this project is an *in silico* proof that enhanced recombination can both speed the genetic gain and increase the asymptotic genetic value of associated plants. For the thesis project, an experimental validation will be performed on *Arabidopsis* if the student is interested.

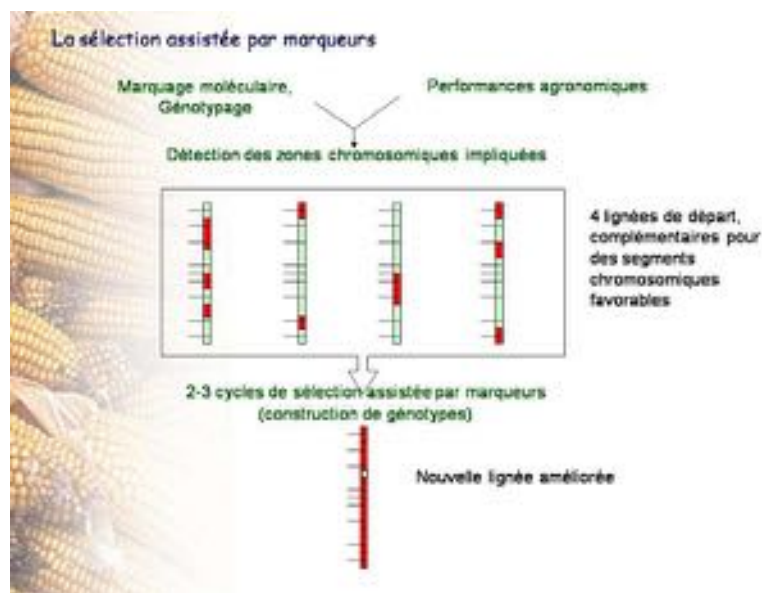


Figure illustrating the assembly or « pyramiding » of chromosomal blocks from different genomes into one ideotype. In reality, the red regions to assemble are far more fragmented and that is why high recombination rates and lack of crossover interference are required for unleashing the full genetic potential sequestered in germplasms.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Génétique Quantitative et Évolution

Adresse : Gif-sur-Yvette

Responsable de stage : Olivier MARTIN

Email : olivier.martin@moulon.inra.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : Structure et Dynamique des Systèmes Vivants

Profil recherché : modélisateur, numéricien, théoricien

Possibilité de poursuite en thèse : oui

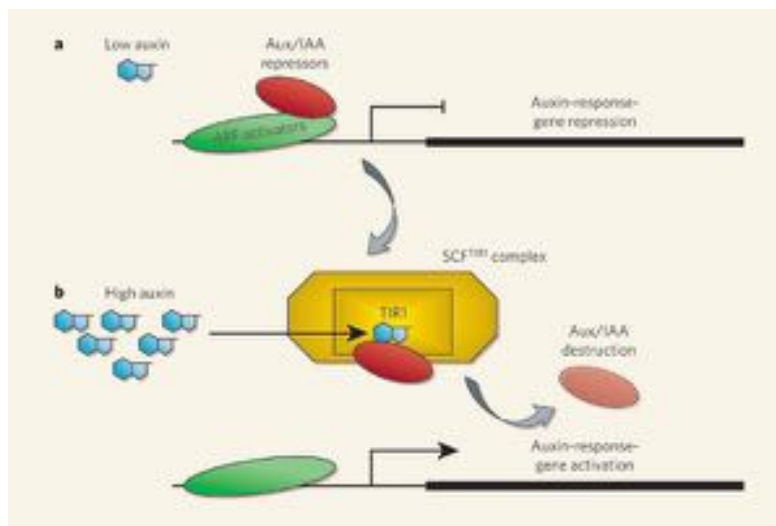
Financement envisagé : IDEX, ED SDSV, ED Frontières du Vivant, Cifre, LabEx

Titre du stage : Modeling intracellular networks of auxin signaling

Résumé : Auxin plays many diverse and major roles in plant growth, development and adaptation. Auxin is transported from cell to cell throughout the whole plant, even starting at embryogenesis. A major intracellular target of the phytohormone auxin is the protein Aux/IAA which sequesters transcription factors of the ARF (auxin response factor) family. In fact, Aux/IAA proteins also belong to a family, and the whole forms a system that leads to different cell states depending on both cellular history and tissue context. Some interactions between these different actors have been inferred as well as a number of regulatory effects. Nevertheless the number of proteins (over 20 in each family) is high so that we have little understanding of the *operating principles* this signaling system. How is such diversity in the response to a single auxin signal possible, and how can the different responses to a single phyto hormone not get mixed up?

We want to decipher the operating principles at work in the auxin signaling system. Some modeling has been proposed using a single "generic" ARF and Aux/IAA pair with a single transcription factor binding site. We want to understand via **theory, modeling *in silico* as well as Monte Carlo exploration**, the diversity of behaviors possible when (i) there is more than one ARE binding site, (ii) transcriptional regulation is allowed to be either positive or negative, (iii) the different members of the ARF or Aux/IAA proteins are given different molecular characteristics. By exploring, sampling and optimizing the wealth of dynamical responses arising in such an *in silico* auxin signaling system, we will (i) generate insights into the associated operating principles and (ii) provide choices of genetic modifications that may experimentally validate the functioning of these principles.

For the modeling, a good level in mathematics and theoretical physics is required, much of the framework being given by ordinary differential equations and thermodynamics. Skills in computational science and running/analyzing simulations will be appreciated. Knowledge of Monte Carlo will be acquired during the rotation if it is not already so because it will be necessary to sample different topologies of the network. Interest in dynamical systems is a plus.



« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Unité de Microbiologie Structurale

Adresse : Institut Pasteur – 25 rue du Dr Roux 75015 Paris

Directeur du laboratoire : Pedro ALZARI

Équipe de recherche (si pertinent) : Type IIB topoisomereses challenges

Responsable de l'équipe : Claudine MAYER

Responsable de stage : Claudine MAYER

Adresse électronique : mayer@pasteur.fr

N° et intitulé de l'École 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

Si oui, financement envisagé : Contrat doctoral (allocation du ministère)

Titre du stage : Etude structurale des mécanismes de régulation de l'ADN gyrase de *Mycobacterium tuberculosis*

Résumé :

La recombinaison entre chromosomes homologues est un processus essentiel dont le rôle mécanique est d'assurer la ségrégation réductionnelle des chromosomes lors de la première division de méiose. La protéine Spo11 est responsable du déclenchement de la recombinaison méiotique par formation de cassures double-brin de l'ADN, et cette activité est apparentée à celle des ADN topoisomérases de type II. Spo11 et sa fonction ont été conservées au cours de l'évolution, de la levure à l'homme: chez tous les eucaryotes testés, les mutants *spo11* sont déficients pour la recombinaison méiotique. D'un point de vue séquence, Spo11 est l'homologue de la sous-unité A de la topoisomérase VI, topoisomérase de type II retrouvée généralement dans les archées, mais aussi chez quelques plantes et protistes.

Le génome de *Arabidopsis thaliana* possède trois homologues de Spo11, et possède par ailleurs un homologue identifié de la sous-unité B de la topoisomérase VI, pouvant ainsi potentiellement former une topoisomérase fonctionnelle avec l'un des homologues de Spo11. Il a été en effet récemment montré que Spo11-3 correspond à la sous-unité A de la topoisomérase VI, alors que Spo11-1 et Spo11-2 sont nécessaires pour la formation des cassures double-brin lors de la méiose.

Le projet proposé vise à caractériser d'un point de vue structural les interactions pouvant exister entre les différents homologues de Spo11 et notamment étudier leur homo- et hétérodimérisation, sachant que la sous-unité A de la topoisomérase forme un dimère dans le contexte de la topoisomérase VI. L'étudiant devra produire et purifier les trois protéines Spo11, caractériser leur degré d'oligomérisation ainsi que leurs associations possibles par les techniques biophysiques disponibles au laboratoire (SEC, diffusion de lumière, UCA) et, pour finir, déterminer leur structure par cristallographie.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Unité de Microbiologie Structurale

Adresse : Institut Pasteur – 25 rue du Dr Roux 75015 Paris

Directeur du laboratoire : Pedro ALZARI

Équipe de recherche (si pertinent) : Type IIB topoisomereses challenges

Responsable de l'équipe : Claudine MAYER

Responsable de stage : Claudine MAYER

Adresse électronique : mayer@pasteur.fr

N° et intitulé de l'École 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

Si oui, financement envisagé : Contrat doctoral (allocation du ministère)

Titre du stage : Caractérisation structurale des protéines Spo11 de *Arabidopsis thaliana*

Résumé :

La recombinaison entre chromosomes homologues est un processus essentiel dont le rôle mécanique est d'assurer la ségrégation réductionnelle des chromosomes lors de la première division de méiose. La protéine Spo11 est responsable du déclenchement de la recombinaison méiotique par formation de cassures double-brin de l'ADN, et cette activité est apparentée à celle des ADN topoisomérases de type II. Spo11 et sa fonction ont été conservées au cours de l'évolution, de la levure à l'homme: chez tous les eucaryotes testés, les mutants *spo11* sont déficients pour la recombinaison méiotique. D'un point de vue séquence, Spo11 est l'homologue de la sous-unité A de la topoisomérase VI, topoisomérase de type II retrouvée généralement dans les archées, mais aussi chez quelques plantes et protistes.

Le génome de *Arabidopsis thaliana* possède trois homologues de Spo11, et possède par ailleurs un homologue identifié de la sous-unité B de la topoisomérase VI, pouvant ainsi potentiellement former une topoisomérase fonctionnelle avec l'un des homologues de Spo11. Il a été en effet récemment montré que Spo11-3 correspond à la sous-unité A de la topoisomérase VI, alors que Spo11-1 et Spo11-2 sont nécessaires pour la formation des cassures double-brin lors de la méiose.

Le projet proposé vise à caractériser d'un point de vue structural les interactions pouvant exister entre les différents homologues de Spo11 et notamment étudier leur homo- et hétérodimérisation, sachant que la sous-unité A de la topoisomérase forme un dimère dans le contexte de la topoisomérase VI. L'étudiant devra produire et purifier les trois protéines Spo11, caractériser leur degré d'oligomérisation ainsi que leurs associations possibles par les techniques biophysiques disponibles au laboratoire (SEC, diffusion de lumière, UCA) et, pour finir, déterminer leur structure par cristallographie. Ces études seront complétées par des analyses de séquences et des techniques de modélisation.

« PROPOSITION DE STAGE ET DE THESE »

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

Adresse : Université Paris 7 – Diderot, 75013 PARIS

Responsables de stage : François Mazuel / Myriam Reffay / Claire Wilhelm

Emails : francois.mazuel@univ-paris-diderot.fr / myriam.reffay@univ-paris-diderot.fr / claire.wilhelm@univ-paris-diderot.fr

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

Profil recherché : Physique / Biophysique / Physico-Chimie

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Financement envisagé : Possibilité de financement sur contrat

Titre du stage :

An all-in-one magnetic bioreactor for tissue formation, maturation and mechanical stimulation

Résumé :

One challenge of tissue engineering is to produce purely cellular tissues that are large, precisely organized and responsive to stimuli, without the need for an artificial supporting matrix.

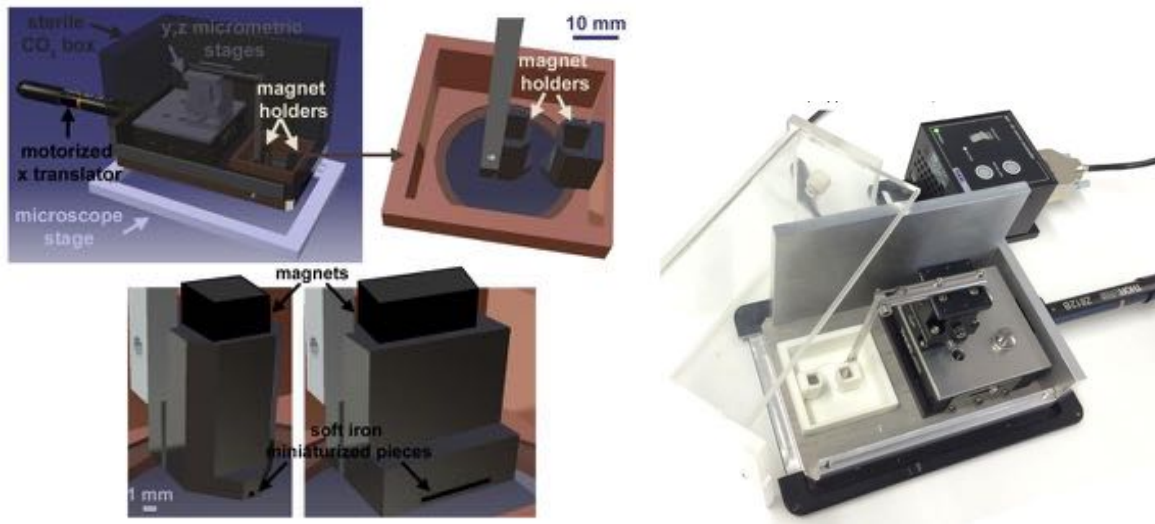
In parallel, modern biophysics is more and more focused on determining the role of physical stimuli in the integrity of a tissue, differentiation of its cellular components, modulation of its mechanical properties, and initiation of active responses.

To address these questions, new methodologies to assemble and organize cells into a structure that can be stimulated at will are sought after. Conventional approaches using 2D patterned substrates to organize cells into defined patterns are clever but still a long way from providing a normal 3D tissue environment, notably because they trigger strong adhesion to the substrate.

To create thick, organized, purely cellular 3D artificial tissues, it is necessary to manipulate the component cells remotely to make them interact and organize. Magnetic forces acting at a distance are extremely appealing candidates, provided the individual cells are first rendered magnetic (via the internalization of magnetic nanoparticles, non-toxic and non-impacting cell functions). Our team recently demonstrated the feasibility of using magnetic forces to create 3D tissue-like structures without the need for a substrate.

The present project will build on these initial results, with the aim of developing a totally new kind of tissue bioreactor which, in a single step, will allow us to create a tissue composed of any type of component cell, then to mature it, stimulate it by compression or stretching at any desired frequency, and finally to handle it without damage. This proposed magnetic bioreactor prototype will be unique in the field of tissue mechanics and engineering.

The idea is to use an assembly of micro-magnets to trap magnetized cells in a home-made bioreactor that provides a perfectly sterile environment (to preserve the tissues for up to several weeks) and is equipped with an observation window through which the tissue can be monitored throughout its formation and maturation (first prototype just produced, see below)



First prototype of the magnetic bioreactor: a micro-tip magnetized by a small permanent magnet is first used to attract and compact the cells (at least 100 000). Once cell-cell adhesion starts (within minutes), a second micromagnet is then used to stretch the aggregate into a rectangular tissue stuck between the two micromagnets.

We will first focus on a model muscle cell line, the C2C12 murine myoblast, not only to monitor tissue formation and establish the technical specifications of the bioreactor, but also because the stretching capacity of the bioreactor is particularly suited to the production of artificial muscle.

The project will be organized as follows:

Step 1: Fluorescence monitoring of individual cellular organization during tissue formation (contour, nucleus, polarization, and cytoskeleton).

Step 2: Mapping of local forces at the heart of the tissue, using nanosensors.

Step 3: Tissue stimulation (stretching/compression at different frequencies/speeds/profiles) and visualization of the failure threshold at the cellular level.

Step 4: Towards functioning muscle (cell alignment and fusion).

The new technology proposed here for cell manipulation at the tissue scale has the potential to enable ground-breaking advances in both biophysics (e.g. role of stress in tissue functions) and cell therapy (production of a variety of functional tissues).

This project is intended to be pursued as a PhD thesis (with possibilities of funding already granted). Profile for the candidate: Physicist / Biophysicist / Engineer in material science.

« PROPOSITION DE STAGE ET DE THÈSE »

Laboratoire : Equipe CAM, UMR 7592, Institut Jacques Monod

Adresse : Institut Jacques Monod, 15 rue Hélène Brion 75013

Responsable de stage : René Marc MEGE

Email : rene-marc.mege@ijm.fr

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

Profil recherché : indifférent

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Financement envisagé : Contrat doctoral Ministère

Titre du stage : Reconstruction d'un mécanosenseur moléculaire

Résumé : Comment les cellules de notre organisme s'adaptent et répondent aux propriétés mécaniques de l'environnement, les transmettent à leurs voisines et les transforment en signaux chimiques, sont des questions majeures en Biologie, Biologie du Développement et Physiologie agissant sur les régulations Génétiques et Epigénétiques. L'exécution du plan d'organisation de l'embryon, la maintenance et la réparation des tissus nécessitent une adaptation constante des contacts physiques des cellules entre elles et avec leur support matriciel. Cette signalisation intercellulaire de type mécanique est essentielle pour la morphogenèse et l'histogenèse. Elle est en particulier perdue dans le cancer. Les forces perçues, transmises ou appliquées par les cellules à ces points de contact contrôlent le positionnement, la forme et le devenir des cellules (en particulier des cellules souches). Cependant comment les cellules s'adaptent et répondent aux propriétés mécaniques de l'environnement, les transmettent à leur voisines et les transforment en signaux chimiques, restent des questions totalement ouvertes que seules des équipes interdisciplinaires comme la nôtre rassemblant Biologistes, Physiciens, Ingénieurs ... peuvent aborder avec succès.

Les cellules interagissent entre elles par des jonctions intercellulaires constituées de protéines d'adhésion transmembranaires homophiliques, les cadhérines. Les cadhérines sont ancrées au cytosquelette d'actine via des molécules associées à leur domaine cytoplasmique, les caténines α , β et p120. Ces complexes jonctionnels ancrés à la surface de la cellule voisine et soumis aux forces générées par les moteurs de myosine se retrouvent ainsi sous tension et non seulement transmettent la tension d'une cellule à l'autre mais aussi adaptent leur composition chimique à la force de traction auxquels ils sont soumis [1]. Ceci sous-tend l'existence d'un mécanosenseur moléculaire difficile à disséquer au niveau cellulaire. La protéine de liaison à l'actine F, α -caténine est la molécule adaptatrice centrale de ce processus de mécanosensibilité des jonctions intercellulaires. Nous avons montré récemment en collaboration avec le Mechanobiology Institute de Singapour comment la force régule le dépliement réversible de l' α -caténine et la liaison de la vinculine, une autre protéine de liaison à la F-actine [2]. Par ailleurs un de nos collaborateurs à Stanford a montré que la liaison de l' α -caténine à l'actine F était également force-dépendante [3]. Les forces mises en jeu sont de l'ordre de 4-5 pNewton, soit la force développée par quelques molécules de Myosine. Cette découverte fournit la première preuve directe d'une hypothèse importante de la Mécanobiologie Cellulaire –l'existence d'un mécanosenseur moléculaire aux contacts intercellulaires- et illustre comment la cellule peut transformer un travail mécanique en un signal chimique de longue durée.

Nous voulons maintenant reconstruire d'abord *in vitro*, la machinerie moléculaire de ce mécanosenseur en utilisant des protéines recombinantes purifiées (caténines, α -caténine, vinculine), des filaments d'actine reconstitués et mis sous tension par les moteurs de myosine. Le mécanosenseur et le réseau d'acto-mysine associé seront autoassemblés sur des supports de verres ou les microcapteurs de force micropatternés, développés au laboratoire [4]. L'imagerie cellulaire, moléculaire ou sub-résolutive (spinning, TIRF, FRET, PALM) et la traction force microscopie seront utilisées pour déterminer la dynamique d'assemblage, les constantes d'association et de dissociation des partenaires, et les forces développées localement. Ces travaux, nous permettront d'élucider le fonctionnement d'un mécanosenseur moléculaire aux contacts intercellulaires. Cela permettra de comprendre comment la cellule peut transformer un signal mécanique instantané en un signal biochimique de longue durée permettant son intégration et l'ajustement de la réponse cellulaire.

1. Ladoux, B., Anon, E., Lambert, M., Rabodzey, A., Hersen, P., Buguin, A., Silberzan, P., and Mege, R.M. (2010). *Biophys J* 98, 534-542.
2. Yao, M., Qiu, W., Liu, R., Efremov, A.K., Cong, P., Seddiki, R., Payre, M., Lim, C.T., Ladoux, B., Mege, R.M., et al. (2014). *Nat Commun* 5, 4525.
3. Buckley, C.D., Tan, J., Anderson, K.L., Hanein, D., Volkman, N., Weis, W.I., Nelson, W.J., and Dunn, A.R. (2014). *Science* 346, 1254211.
4. Gupta, M., Kocgozlu, L., Sarangi, B.R., Margadant, F., Ashraf, M., and Ladoux, B. (2015). *Methods Cell Biol* 125, 289-308.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Institut de Biologie du Développement de Marseille

Adresse : Parc Scientifique de Luminy, 13288 Marseille, France

Responsable de stage : Alphée MICHELOT

Email : alpee.michelot@cea.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED « Sciences de la Vie et de la Santé » de l'Université d'Aix-Marseille

Profil recherché : Physicien ou Biologiste recherchant une approche multi-disciplinaire

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : Financement disponible par ERC ou Labex INFORM

Titre du stage: Building Distinct Actin Filament Networks in a Common Cytoplasm.

Key Words : Actin cytoskeleton; Biomimetism and Imaging.

Résumé:

Actin filaments are key components of the cytoskeleton, and their assembly into various complex tridimensional networks serves as an internal architecture for eukaryotic cells. The fast dynamics of these polymeric networks enable cells to exert forces in order to change their shape, move, and divide themselves.

Our team studies the physical and molecular rules regulating actin assembly into different networks. To that end, we develop diverse techniques in order to understand how actin-regulating proteins cooperate with actin in a complex environment. We mostly use *in vitro* approaches, using purified proteins or cellular protein extracts, combined with top-end fluorescence imaging techniques. For example, the image on the right represents the nucleation and branching of individual actin filaments by the Arp2/3 complex.



How cells organize their interior is one of the central questions in biology. **The objective of this specific project** is to understand how cells can generate the formation of two different actin networks within a common pool of components. The candidate will have to identify and characterize the involved molecular players, using molecular imaging and modeling.

We are looking for PhD candidates with a background in biology, physics and/or biology, and interested in applying this knowledge to answer some fundamental biological questions. Candidates should be creative while being highly rigorous. The capacity to provide a comprehensive and synthetic description of ongoing work will be required. The host institution is international, so speaking French is not mandatory.

General information about the PhD program: <https://labexinform.wordpress.com/2014-phd-program/>

Bibliographie :

1. GRESSIN L, GUILLOTIN A, GUERIN C, BLANCHOIN L, MICHELOT A. Architecture Dependence of Actin Filament Network Disassembly. *Curr Biol*. 2015 Jun 1;25(11):1437-47.
2. MICHELOT A, DRUBIN DG. Building Distinct Actin Filament Networks in a Common Cytoplasm. *Curr Biol*. 2011 Jul 26;21(14):R560-9

Documents needed to apply:

- Cover letter (Indicate your main scientific interests, explain how you think your background fits with this interdisciplinary program and specify how you can contribute to the different disciplines)
- Resume

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : I2BC

Adresse : bât 34, 1 av de la terrasse, 91198 Gif sur Yvette cedex

Directeur du laboratoire : Thierry MEINNEL

Équipe de recherche (si pertinent) : Microbiologie et enzymologie structurale

Responsable de l'équipe : Solange MORERA

Responsable de stage : Solange MORERA

Adresse électronique : solange.morera@i2bc.paris-saclay.fr

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

Profil recherché : Biochimiste, Biophysicien, Physicien

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : ED ou financement ANR

Titre du stage : Etude de protéines périplasmiques chez *A. tumefaciens*

Résumé :

Notre équipe étudie la relation bactérie- plante depuis plusieurs années à travers l'étude d'opines (petites molécules) que la plante fabrique sous le contrôle de la bactérie *Agrobacterium tumefaciens* (pathogène de plantes d'intérêt agronomique) et qui sont importées dans la bactérie pour servir de nutriments et dans certains cas de molécule signal de virulence. L'import des opines dans le cytoplasme de la bactérie se fait grâce à des protéines périplasmiques associées à des transporteurs ABC. Récemment, nous avons résolu plusieurs structures de protéines périplasmiques (Atu2422, Atu4243, NocT et AccA) de la souche *Agrobacterium tumefaciens* C58 transportant du GABA ou des opines ainsi que des antibiotiques. Nous souhaitons poursuivre la caractérisation de PBP dans d'autres souches bactériennes pour affiner notre proposition "de motif de reconnaissance".

L'étudiant intéressé par ce stage sera amené à exprimer, purifier, cristalliser des protéines périplasmiques. Tous les gènes sont déjà clonés dans des vecteurs d'expression. La résolution structurale sera envisagée en fonction des résultats de cristallogénèse. L'étudiant(e) sera également amené(e) à caractériser l'interaction protéine-ligand par microcalorimétrie et/ou autofluorescence.

Mots clés : expression/purification de protéines ; biochimie des protéines ; cristallogénèse ; cristallographie ; relation structure/fonction.

References :

- El Sahili A, Li SZ, Lang J, Virus C, Planamente S, Ahmar M, Guimaraes BG, Aumont-Nicaise M, Vigouroux A, Soullère L, Reader J, Queneau Y, Faure D, Moréra S. (2015). A Pyranose-2-Phosphate Motif Is Responsible for Both Antibiotic Import and Quorum-Sensing Regulation in *Agrobacterium tumefaciens*. PLoS Pathogens 11(8):e1005071.
- Julien Lang#, Armelle Vigouroux#, Sara Planamente, Abbas El Sahili, Pauline Blin, Magali Aumont-Nicaise, Yves Dessaux, Solange Moréra, Denis Faure (2014) *Agrobacterium* uses a unique ligand-binding mode for trapping opines and acquiring a competitive advantage in the niche construction on plant host. PLOS Pathogens 10:e1004444.
- Sara Planamente, Samuel Mondy, Florence Hommais, Armelle Vigouroux, Solange Moréra, Denis Faure (2012). Structural basis for selective GABA-binding in bacterial pathogens. Mol. Microbiol. 86, 1085-1099.

**Nanoparticle interactions with the lungs:
The Lung-On-A-Chip project**

Supervisors:

Name: Fanny Mousseau / Alexandra Lanièce / Jean-François Berret
E-mail: fanny.mousseau@univ-paris-diderot.fr
alexandra.laniece@univ-paris-diderot.fr
jean-francois.berret@univ-paris-diderot.fr

Host Laboratory:

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

Partners or collaborations :

Name: Yong Chen / Sandrine Quignard
Phone: 01-4432-2421
E-mail: yong.chen@ens.fr / quignard@ens-cachan.fr
Affiliation: École Normale Supérieure, Département De Chimie
Address : UMR 8640 "Pasteur" CNRS-ENS-UPMC 24 Rue Lhomond. 75231
Paris Cedex 05. France

DESCRIBE THE TEAM THAT THE STUDENT WILL JOIN FOR THE PROJECT

The intern will join a group of 8 researchers, composed of 3 PhDs (Fanny Mousseau, Alexandra Lanièce, Chloé Puisney), 3 postdocs (Laure Herrman, Evi Oikonomou, Frédéric Loosli) and 1 permanent position (Jean-François Berret, director of research at the CNRS). Our research group develops novel functional nanostructures with stimuli-responsive features and biocompatibility. The particles, proteins and 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.

THE INTERNSHIP

Subject

The intern will work on the nanoparticle characterization. He/She will perform cellular culture and develop protocols to study the interaction between the cells and the nanoparticle in microfluidic environments. He/She will learn about general chemistry and physics of nanoparticle and cell culture.

Skills

A background of physics, chemistry, biology or engineering is recommended (preferentially level M1 or above).

Duration

The internship is designed to last between 3 and 6 months.

Research Internship projects 2015 – 2016
for Master 1 – Master 2 – PhD in Physical-Chemistry and Biophysics
Matière et Systèmes Complexes – Université Denis Diderot (Paris 7)

THE PROJECT

General context

Investigating the influence of pollution from particulate matter on human lungs is a pressing issue. Particulate matter contains micro- and nanoparticles that are suspended in the air and susceptible to be inhaled by humans. Their origins are diverse, including car pollution, cigarette smoke, fossil energy consumption and garbage incineration etc.. . The impact of nanoparticles to the lungs is domain of intense research. The recent progress in science now enables the characterization of such nanoparticles for biochemical analysis. Their interactions with lung fluid and pulmonary epithelial cells are under examination in our lab, the Laboratory Matière et Systèmes Complexes at the Université Denis-Diderot, Paris 7.

Research context

Recent findings in cell biology have underlined the importance of the mechanical environment for cell growth and tissue differentiation. These studies emphasize the importance of designing cell culture systems that mimic the physical microenvironment of living organs as well as providing natural chemical cues. Indeed, for the cells to maintain their differentiated functions, we need to reconstitute the *in vivo* cellular microenvironment. In response to that, and with the recent progress in micro-fabrication techniques, microfluidic devices have been designed to replicate specific microenvironments for 3D cell culture. The device consists in a PDMS chip, with micro-channels embedded by techniques such as photolithography. These channels supply a chamber where the cells are grown. Depending on the environment we want to mimic, mechanical or electrical stimulations can also be applied to the chip. The PDMS material was chosen for its high gas permeability (ensuring oxygen supply to cells in micro-channels), its optical transparency (allowing to carry out real-time micro-fluorimetric measurements), and its high flexibility (allowing precise automated control of fluid flow). This kind of cell culture, differentiating a precise tissue and its specific microenvironment is generally referred to as “Organs-on-a-chip”.

Research objectives

In light of these recent innovations, we decided to use this “Organs-on-a-chip” technology to better study the integration of pollution nanoparticles inside the human body. In order to add to the challenge, we decided to use induced pluripotent stem cells (iPSC), which can –under precise and complex biochemical conditions- differentiate into a perfect alveolus epithelium (pneumocytes type I and II + surfactant production). The first step of this project is to develop the “Alveolus-on-a-chip” device. The microfabrication will be handled at the P.A.S.T.E.U.R. Laboratory (Processus d'Activation Sélective par Transfert d'Energie Uni-électronique ou Radiatif) of ENS Paris. In parallel, we will study the interaction of different kinds of nanoparticles with the lung epithelial cells and the lung fluid, and we will implement a protocol to characterize the nature and the toxicity of these interactions.

References

Lung-on-a-chip

Huh, D., Matthews, B. D., Mammoto, A., Montoya-Zavala, M., Hsin, H. Y., & Ingber, D. E. (2010). Reconstituting organ-level lung functions on a chip. *Science*, 328(5986), 1662-1668.

Generalities about organs-on-chips

Giobbe, G. G., Michielin, F., Luni, C., Giulitti, S., Martewicz, S., Dupont, S., ... & Elvassore, N. (2015).

Functional differentiation of human pluripotent stem cells on a chip. *Nature methods*.

Bhatia, S. N., & Ingber, D. E. (2014). Microfluidic organs-on-chips. *Nature biotechnology*.

Nanoparticles and surfactant interactions

Mousseau, F., Le Borgne, R., Seyrek, E., & Berret, J. F. (2015). Biophysicochemical Interaction of a Clinical Pulmonary Surfactant with Nanoalumina. *Langmuir*, 31(26), 7346-7354.

PROPOSITION DE SUJET DE STAGE DE M2 ET/OU DE THESE

Laboratoires : Laboratoire de Biochimie (LBC), ESPCI-ParisTech
Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (LIPhy), Université Grenoble Alpes

Responsables de stage: Clément Nizak & Olivier Rivoire

Emails : clement.nizak@espci.fr , olivier.rivoire@ujf-grenoble.fr

Pages web : <http://blog.espci.fr/nizak/>, <http://evophysics.net>

Lieu de stage : Paris ou Grenoble

Quantitative protein evolution

Proteins recapitulate at a molecular scale much of our difficulty to develop a theory of living matter: we know precisely what constitutes a protein (a sequence of amino acids) but do not understand how the many "functions" that proteins perform (specific binding, catalysis, information transmission...) emerge from the interactions between their constituents.

Nature built proteins through a process of evolution by natural selection and our approach is to study the relation between protein sequence and function via this process. To this end, we combine high-throughput microfluidics biochemistry experiments, statistical data analysis and mathematical models inspired by statistical physics to generate and analyze controlled evolutionary trajectories of proteins. The outputs of these trajectories are then compared with models derived from natural protein sequences.

Our current experimental workflow consists in constructing libraries of millions of mutants of an enzyme, which we encapsulate one by one in monodisperse droplets. The proteins in each droplet are expressed, assayed for enzymatic function using fluorescent assays and sorted into bins that correspond to each level of enzymatic activity. Deep sequencing of genes that encode the proteins in each bin yields quantitative information on the relation between sequence (genotype) and function (phenotype). This large scale inference of genotype-phenotype mapping (or "fitness landscape") can be compared to models derived from natural enzyme sequence repositories.

We propose several lines of work on this theme for a Master internship/PhD thesis, ranging from purely theoretical to predominantly experimental, depending on the interests of the candidate. A background in quantitative sciences (physics, maths or engineering) is desirable but no prior knowledge in protein evolution or biology is required if the candidate has the motivation to learn these subjects.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : UMR GMPA (Génie Microbiologique et Procédés Alimentaires)

Adresse : Thiverval Grignon (78)

Directeur du laboratoire : François BOUÉ

Équipe de recherche (si pertinent) : équipe MALICES (modélisation de systèmes biologiques et alimentaires)

Responsable de l'équipe : Nathalie PERROT

Responsable de stage : Nathalie PERROT

Adresse électronique : nathalie.perrot@grignon.inra.fr

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

Profil recherché : Formation ingénieur(e) du vivant ou biologiste ayant une bonne formation et un intérêt certain pour la programmation ou ingénieur(e) en informatique/physique intéressé(e) par le vivant. Autonomie et ouverture requises avec intérêt pour travailler avec différents acteurs dont des acteurs de la filière viticole.

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : indemnité de stage niveau M2

Titre du stage : Prédiction de la maturation des baies de raisin par apprentissage mathématique et recueil d'expertise. Application à différents cépages.

Résumé :

La vigne tient une place importante dans l'économie agricole française. La France est le premier producteur de vin en valeur et en volume et le second en surface (derrière l'Espagne). La filière viti-vinicole est en France un secteur économique majeur. Elle représente 14 % du poids économique de l'agriculture en France et 19% des emplois agricoles totaux avec 150.000 emplois en 2010.

Avec la deuxième plus grande surface de vigne dans le monde (environ 800.000 ha), la France est aussi le leader mondial à la fois en termes de production de plants de vigne et de raisins. Cependant, la concurrence mondiale est désormais une réalité (concurrence des Etats Unis, d'Amérique du Sud, d'Afrique du Sud, d'Australie, mais aussi de Chine, de l'Est de l'Europe) et la France a besoin d'accroître la compétitivité de sa filière viticole. Si la compétitivité est souvent reliée au potentiel de production et à la maîtrise des coûts, le positionnement qualitatif de nos vins doit également permettre une différenciation positive, la qualité des vins est donc primordiale dans la stratégie de commercialisation des vigneron, et cette dernière est conditionnée par une maîtrise de la qualité des raisins.

Parmi les demandes des acteurs de la filière viticole, le besoin de méthodes d'évaluation de la maturité des baies de raisin et de leur potentiel à la vinification selon des cibles « vins » déterminées est clairement exprimé.

Plusieurs types de maturité peuvent être mesurés montrant bien la complexité du problème, maturité technologique à partir de la concentration en sucre et de l'acidité, phénolique par la mesure photométrique des phénols et des anthocyanes, aromatique mesurée par la chromatographie des composés d'arômes, sensorielle par des méthodes adaptées au terrain. Mais, ces analyses sont consommatrices en temps, pour la plupart elles restent des mesures en laboratoire généralement coûteuses pour un suivi rapproché de la maturation. Dans la pratique, des réseaux de suivis de maturité existent dans toutes les régions viticoles françaises, qui consistent à référencer les cépages et les parcelles associées les plus représentatives de la zone viticole donnée; d'assurer des prélèvements de raisins, et la réalisation des analyses physicochimiques citées précédemment. Outre le fait que la mise en œuvre soit fortement mobilisatrice, sa limite est que les analyses réalisées sont représentatives de l'état de maturité des raisins, au temps t, et n'ont aucune valeur de prédiction.

Le développement de modèles mathématiques prenant en compte la complexité des phénomènes mis en jeu dans un système vivant multi-échelle tel celui considéré est une piste très intéressante car elle peut permettre de comprendre les mécanismes gérant les processus, ce qui permet d'anticiper le phénomène et d'adapter les conditions de culture ou de transformation (Perrot et al., 2011). Pour le suivi de la maturation des baies, peu de modèles ont été développés et le caractère prédictif de ces modèles est généralement absent (Perrot et al., 2015). Pourtant, pouvoir disposer d'estimation de valeurs d'indicateurs de maturité et surtout de prévision d'évolution de ces grandeurs serait un plus pour les professionnels. Au-delà des valeurs absolues des variables prédites, l'information sur l'accélération ou le ralentissement de la maturation pour la semaine à suivre est une donnée qualitative très importante pour les vigneron.

Ainsi, le projet se propose de développer un modèle de prédiction de la maturation des baies de raisin. Un cadre conceptuel informatique devra être développé afin de proposer un modèle le plus générique possible, c'est-à-dire capable de s'adapter à différents cépages et différentes régions. Pour cela, sur la base des travaux antérieurs, une méthodologie permettant de coupler apprentissage d'un graphe, expertise, visualisation et données sera à développer. Par ailleurs l'approche proposée reposera également sur un recueil d'expertise qui sera réalisé en début de thèse et formalisé mathématiquement. Ce projet est soutenu par les partenaires de l'interprofession des vins de Loire (Interloire), et celles des vins du Beaujolais (Inter Beaujolais).

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Unité de Microbiologie Structurale

Adresse : Institut Pasteur – 25 rue du Dr Roux 75015 Paris

Directeur du laboratoire : Pedro ALZARI

Équipe de recherche (si pertinent) : Type IIB topoisomereses challenges

Responsable de l'équipe : Claudine MAYER

Responsable de stage : Stéphanie PETRELLA

Adresse électronique : stephanie.petrella@pasteur.fr

N° et intitulé de l'École 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

Si oui, financement envisagé : Contrat doctoral (allocation du ministère)

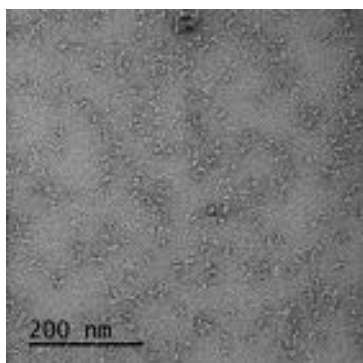
Titre du stage : Etude structurale des mécanismes de régulation de l'ADN gyrase de *Mycobacterium tuberculosis*

Résumé :

Le projet proposé vise à poursuivre les études structurales et fonctionnelles de l'ADN gyrase de *M. tuberculosis* (Mtb), cible unique des quinolones, antibiotiques clés du traitement des tuberculoses à bacilles résistants. Dans notre équipe, nous nous intéressons à la caractérisation structurale et fonctionnelle de l'ADN gyrase de Mtb. Dans ce cadre, nous avons résolu les structures cristallographiques à haute résolution des 4 domaines isolés constituant cet enzyme hétérotétramérique.

L'objectif du stage proposé comporte 2 volets, (1) le premier concerne la détermination de la structure à haute résolution de l'ADN gyrase entière afin d'élucider les spécificités structurales propres à cette espèce ; (2) le deuxième porte sur l'étude des protéines intervenant dans la régulation de l'activité de cette enzyme.

Pour atteindre ces objectifs, nous travaillons sur une protéine dont les deux sous-unités de l'ADN gyrase sont fusionnées (GBGAf) facilitant ainsi l'obtention de l'hétérotétramère. Les différentes constructions et les protocoles permettant de produire et purifier les protéines d'intérêt (fusion et protéines régulatrices) sont déjà disponibles. L'étudiant devra produire et purifier toutes les protéines impliquées et caractériser leur assemblage par les techniques biophysiques disponibles au laboratoire (SEC, BNpage, ITC, UCA). Nous avons également initié des études de SAXS (Bag Pasteur). Des études préliminaires de microscopie électronique (cf image ci-dessous obtenue en coloration négative) montrent que les particules isolées correspondant à cette nanomachine reconstituée sont homogènes et non agrégées (élément important dans la détermination de la structure par cette méthode).



En parallèle, des tests de cristallisation de la protéine native et de mutants seront entrepris en présence de différents ligands (analogue ATP, ADN, protéine mimant l'ADN, quinolones) pour stabiliser des conformations importantes dans le processus catalytique de cette enzyme très flexible (accès à la plateforme de cristallisation et au synchrotron via le Bag Pasteur). Ces études structurales ont pour but de mieux comprendre le fonctionnement de cette enzyme pour, à terme, identifier de nouveaux inhibiteurs de l'activité ADN gyrase, et donc de nouveaux antituberculeux.

Au cours de son stage, l'étudiant(e) de M2 réalisera l'étude biochimique et structurale de cette enzyme. Elle/il utilisera des techniques de biologie moléculaire (clonage de gènes, électrophorèse, expression de protéine recombinantes), de biochimie (chromatographie) et de biophysique (DLS, SAXS, microscopie électronique, cristallographie des protéines) afin de purifier les protéines et d'en caractériser la structure.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Institut des NanoSciences de Paris – UPMC - UMR 7588

Adresse : 4 place Jussieu, 75005 Paris

Responsable de stage : Lea-Laetitia PONTANI

Email : pontani@insp.upmc.fr

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

Profil recherché : Biophysique à l'interface matière molle – biologie (adhésion, lipides)

Possibilité de poursuite en thèse : Oui

Financement envisagé : Bourse de l'ED + attente de résultats programme EMERGENCE

Titre du stage : Synthèse et Insertion de particules gonflables de polyNIPAM dans des émulsions biomimétiques

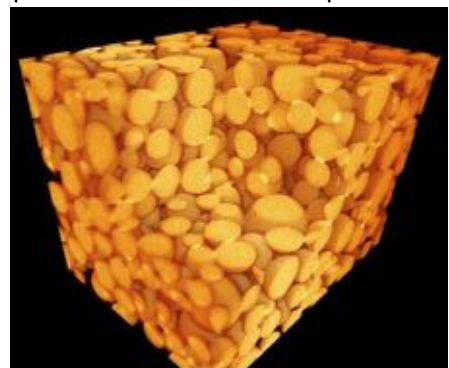
Résumé :

Nous étudierons les propriétés mécaniques d'émulsions dites biomimétiques afin de comprendre le comportement des tissus cellulaires dans un cadre simplifié. En effet ces émulsions miment les propriétés mécaniques et adhésives des tissus biologiques tout en permettant de s'affranchir de leur machinerie cellulaire complexe. En particulier nous souhaitons stimuler ces émulsions biomimétiques grâce à l'insertion de **particules gonflables** qui viendront donc appliquer une **contrainte mécanique locale** dans l'empilement de gouttes.

Ce stage portera (i) sur la synthèse et la caractérisation de ces particules puis (ii) sur leur insertion dans les émulsions biomimétiques. Les particules seront faites de **microgels de poly-NIPAM**, un polymère **thermosensible** dont l'affinité pour l'eau dépend de la température. Au-dessous d'une température de transition d'environ 32°C il est hydrophile et le réseau est gonflé, tandis qu'au-dessus de cette température il devient hydrophobe et le réseau s'effondre. Les particules à l'état gonflé devront être de taille comparable à celle des gouttes (de rayon ~5 µm) et de module élastique supérieur à celui des émulsions

La synthèse des particules déformables s'appuiera sur une technique [Xia et al., 2013] qui permet de polymériser des particules dont le rayon augmente d'un facteur 4 entre les états collapsé et gonflé et dont les modules élastiques dans ces deux états sont très supérieurs à celui des émulsions. Après leur synthèse, ces particules seront introduites dans les émulsions biomimétiques afin d'étudier leur réponse grâce à la microscopie confocale. En effet l'imagerie tridimensionnelle des émulsions nous permet d'obtenir localement la taille de toutes interactions entre gouttes (adhésion, forces élastiques de déformation de la surface) ainsi que la topologie de l'empilement.

Cette étude nous permettra d'étudier la nature de la réponse des émulsions biomimétiques en fonction de l'amplitude de la déformation appliquée mais aussi en fonction de l'énergie d'adhésion choisie entre les gouttes. Nous distinguerons les réponses élastiques, lors desquelles seules les adhésions autour des gouttes sont modifiées, et les réponses plastiques associées à des changements topologiques de l'empilement de gouttes dans l'émulsion.



Représentation 3D d'une émulsion observée par microscopie confocale (arrête 100µm)

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Institut des NanoSciences de Paris – UPMC - UMR 7588

Adresse : 4 place Jussieu, 75005 Paris

Responsable de stage : Lea-Laetitia PONTANI

Email : pontani@insp.upmc.fr

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

Profil recherché : Biophysique à l'interface matière molle – biologie (adhésion, lipides)

Possibilité de poursuite en thèse : Oui

Financement envisagé : Bourse de l'ED

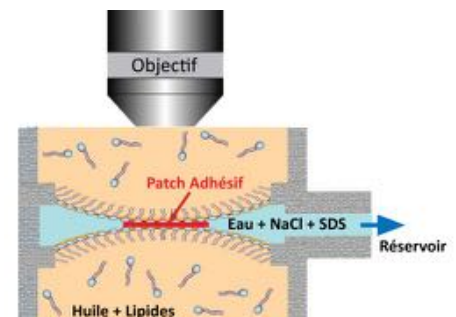
Titre du stage : Adhésion Biomimétique dans une Cellule de Scheludko

Résumé :

Nous nous intéressons aux mécanismes de l'adhésion goutte-goutte dans des **émulsions biomimétiques**. Ces gouttes sont dites biomimétiques car elles miment les propriétés des cellules dans les tissus biologiques : leur taille est comparable à celle des cellules ; la membrane cellulaire est remplacée par une monocouche fluide de phospholipides ; l'adhésion cellulaire est mimée par des interactions biotine-streptavidine. Lorsque les gouttes entrent en contact les streptavidines diffusent à leur surface pour s'accumuler dans des **patches adhésifs** visibles en **microscopie confocale**. Ce stage portera sur **une caractérisation détaillée de la dynamique de recrutement de ces ligands en réponse à une variation de contrainte sur un contact unique entre deux gouttes**.

Afin de modéliser un contact unique entre deux gouttes nous utilisons une cellule de Scheludko : un film de solution aqueuse est stabilisé entre deux phases huile afin de mettre en vis-à-vis deux interfaces eau-huile similaires à celles de deux gouttes au contact. L'eau est reliée à un réservoir pour contrôler l'épaisseur de ce film. Le dispositif est placé sous un microscope afin de visualiser l'ensemble du film par épifluorescence et de mesurer l'épaisseur locale du film par interférométrie de la lumière.

Grâce à ce dispositif nous étudierons le mécanisme de formation des patches adhésifs et leur cinétique de croissance et de rupture sous traction. En effet nous pourrions amincir le film afin de déclencher l'adhésion entre les deux interfaces, ou au contraire le gonfler et ainsi tirer sur les adhésions jusqu'à leur rupture. Cette étude détaillée nous permettra par la suite de mieux comprendre la réponse d'une émulsion 3D à des perturbations mécaniques locales, analogues à celles rencontrées lors de la morphogenèse.



Dispositif expérimental pour l'étude d'un contact

PROPOSITION DE STAGE ET DE THÈSE

Laboratoire : Laboratoire Jean Perrin – UMR8237 – CNRS/UPMC

Adresse : Tour 32-33, 5^{ème} étage, 4, place Jussieu, 75005 Paris

Responsable de stage : Alexis PREVOST – Elie WANDERSMAN

Email : alexis.prevost@upmc.fr / elie.wandersman@upmc.fr

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

Profil recherché : Physique expérimentale

Possibilité de poursuite en thèse : Oui

Financement envisagé : Allocation Ministère - Allocation Normalien

Titre du stage : Tissus Artificiels Mécanosensibles

Résumé : Nous étudions le problème général de la mécano-transduction, *i.e.* les mécanismes par lesquels les êtres vivants convertissent un stimulus mécanique en une réponse biologique de nature chimique et/ou électrique [1]. Ces mécanismes sont au cœur même du sens du toucher et résultent de la présence de mécanorécepteurs qui innervent l'extrémité de nos doigts et qui convertissent toute déformation de la peau en impulsions nerveuses. Au cours des dix dernières années, notre groupe a cherché à comprendre les aspects mécaniques de la perception tactile en développant des dispositifs biomimétiques de l'organe tactile (doigt chez l'humain, système vibrissal chez les rongeurs). Nous avons ainsi identifié comment les propriétés élastiques et de texture de l'organe tactile participaient au filtrage mécanique des signaux de fluctuations de contraintes mesurés par les mécanorécepteurs [2,3]. Nous étendons maintenant l'approche biomimétique à un niveau cellulaire/moléculaire en développant des mécanorécepteurs modèles et en cherchant à caractériser leur réponse et propriétés de filtrage à des stimuli mécaniques bien contrôlés. La capacité des mécanorécepteurs à répondre à une perturbation mécanique repose sur la présence de nombreux canaux ioniques mécano-sensibles distribués sur leur membrane lipidique. Ces canaux sont des protéines transmembranaires de taille nanométrique dont les changements de conformation, induits par une contrainte mécanique, conduisent à une modification de la perméabilité membranaire. Le flux ionique à travers la membrane induit sa dépolarisation, qui peut ainsi déclencher un potentiel d'action. La relation entre les contraintes mécaniques appliquées (statique et/ou dynamique) et l'ouverture/fermeture des canaux reste cependant mal comprise. En particulier, l'existence d'un seuil de réponse mécanique reste à démontrer. La connexion entre la réponse dynamique et la cinétique d'ouverture des canaux, qui semble être à l'origine de la mise en forme des séquences de décharge des potentiels d'action, a également été peu explorée.

Pour étudier ces questions, nous utilisons des systèmes synthétiques de bicouches lipidiques [4] dans lesquelles peuvent être insérés différents types de canaux. Les bicouches sont fabriquées en mettant en contact une gouttelette aqueuse et un bloc d'hydrogel, ou deux gouttelettes aqueuses, baignant dans de l'huile contenant des lipides. A l'interface de contact se forme une unique bicouche lipidique, dans laquelle nous avons récemment inséré avec succès des pores inertes d'alpha hémolysine. A terme, il s'agira d'inclure des pores mécano-sensibles pour étudier les propriétés de transport ionique sous contrainte mécanique statique et dynamique. A plus long terme, nous considérerons des assemblées de gouttelettes connectées par des pores mécano-sensibles. Ces réseaux seront soumis à des perturbations mécaniques contrôlées et nous étudierons les propriétés de transport à une échelle plus grande, celle du tissu cellulaire.

Dans ce cadre, nous recherchons donc un/une candidat(e) pour un stage qui pourra être suivi d'une thèse. Le stage sera centré sur le développement d'un système comportant une unique bicouche lipidique dans laquelle seront insérés des pores mécano-sensibles directement exprimés dans la gouttelette. Il s'agira également de développer un système de mesure optique des courants ioniques (imagerie calcique) pour compléter le dispositif de mesure actuel d'électrophysiologie. La thèse étendra ce travail au développement d'un système d'excitation mécanique de type piézoélectrique et à l'étude des réseaux. Le candidat se devra d'avoir de solides connaissances en physique, un goût prononcé pour l'instrumentation et la physico-chimie et un réel attrait pour l'étude des systèmes biologiques.

Références

[1] – S. S. Ranade, R. Syeda, A. Patapoutian, *Neuron* **87**, 1162 (2015)

[2] – J. Scheibert, S. Leurent, A. Prevost, G. Debrégeas, *Science* **323**,1503 (2009)

[3] – E. Wandersman, R. Candelier, G. Debrégeas, A. Prevost, *Phys. Rev. Lett.* **107**, 164301 (2011)

[4] – S. Lepthin, O. Castell, B. Cronin, E. Lee, L. Gross, D. Marshall, J. Thompson, M. Holden, M.I. Wallace, *Nature Protocols* **8**, 1048 (2013)

Interplay between cell micromechanical properties and cell microenvironment in T cell activation

Adviser : Pierre-Henri Puech

Lab : LAI / Inserm U1067, Head : Prof. Pierre Bongrand

In collaboration with : Yannick Hamon / Hai-Tao He (CIML)

Summary

The key function of T-lymphocytes during an immune response is to scan the surface of surrounding cells via the T-cell receptor (TCR) and to detect the presence of foreign peptide antigens on antigen presenting cells (APC) among the many self-peptides presented by the Major Histocompatibility Complexes (MHC). The TCR-MHC interaction is required for activation of T-cells and subsequent proliferation and further differentiation into the different lymphocytes subclasses such as CD8+ cytotoxic T-cells, which ultimately kill infected cells. Finally, TCR-MHC interactions provide constant "survival signals" for maintaining a steady population of memory cells, which constitute our long term immunity.

TCR dependant signalling must therefore be rapid and sensitive so as to productively detect the presence of very low numbers of foreign peptide antigen and at the same time be able to filter out the self-peptide/MHC generated "noise" so as not to harm normal tissue. How different TCR-peptide/MHC binding events are processed by the lymphocytes cellular signalling machinery remains a critically important question for both the development and the functioning of the adaptive immune response. Along these lines, the role of the cytoskeletal architecture of the T cell in the activation properties of those cells is still to be clearly established : it allows the T cells to exert forces on the APC, down to single molecule scale, and those forces have been proposed to be a key determinant for the capacity of the T cell to selectively and finely recognize foreign peptide and activate.

We will stand to investigate how micromechanical properties of T cells (such as adhesion, elasticity, membrane tension) are influenced / influencing the phenomenon of activation, using advanced biophysical techniques based on force application / measurement simultaneous to observation of activation reporters (such as Ca⁺⁺ sensitive dyes), allowing to measure eg. cell elasticity and adhesion while signalling is occurring. In this context, the way T cell (micromechanical) microenvironment crucially affects the capacity of T cell to answer to a controlled and defined cue will be analyzed, by complicating this microenvironment (cell / functional substrate, cell / APC, APC / cell / APC) and / or perturbing it (using lipid modification of membranes, drugs against cytoskeleton components, antibodies against receptors, various APC cell types) in original ways.

The master student will also be readily included in studies and developments using the available tools and others topics in the lab, around the thematic of cell micromechanical properties and transmission / integration of information through the cell's membrane, leading to modification of cell function and behaviour.

This topic provides a unique approach to the interface of physics and biology for a biologist in a young, highly cohesive and multidisciplinary environment (physicists, biologists and physicians) around a theme with strong applications in human health.

Already available techniques (@LAI) Atomic Force Microscopy (AFM) coupled to fluorescence microscopy, Optical Tweezers coupled with fluorescence microscopy, Micromanipulations / Biomembrane Force Probe (BFP), Fluorescence and TIRF microscopies, murine cell cultures (**@CIML**) Advanced optical microscopies, Optical Tweezers coupled to Confocal Microscopy, FCS, FCCS, FACS, murine cell cultures, extraction of cells from mice

References

Force measurements of TCR/pMHC recognition at T cell surface. Puech PH, Nevoltris D, Robert P, Limozin L, Boyer C, Bongrand P. PLoS One. 2011 ;6(7) :e22344.

Barcoding T cell calcium response diversity with Methods for Automated and Accurate Analysis of Cell Signals (MAAACS). Salles A, Billaudeau C, Sergé A, Bernard AM, Phélipot MC, Bertaux N, Fallet M, Grenot P, Marguet D, He HT, Hamon Y. PLoS Comput Biol. 2013 ;9(9) :e1003245

Atomic Force Microscopy : A Versatile Tool for Studying Cell Morphology, Adhesion and Mechanics Franz CM, Puech PH* Cellular And Molecular Bioengineering 1(4) :1865-5025 2008

Tensile forces govern germ-layer organization in zebrafish. Krieg M, Arboleda-Estudillo Y, Puech PH, Käfer J, Graner F, Müller DJ, Heisenberg CP. Nat Cell Biol. 2008 Apr ;10(4) :429-36.

Probing the plasma membrane organization in living cells by spot variation fluorescence correlation spectroscopy. Billaudeau C, Mailfert S, Trombik T, Bertaux N, Rouger V, Hamon Y, He HT, Marguet D. Methods Enzymol. 2013 ;519 :277-302.

Membrane dynamics shape TCR-generated signaling. He HT, Bongrand P. Front Immunol. 2012 Apr 26 ;3 :90.

Websites

LAI : <http://lai.sciences.univmed.fr/> ; **PHP** : puechph.free.fr

YH/ HTH : <http://www.ciml.univ-mrs.fr/fr/science/lab-hai-tao-he-didier-marguet/pour-tous>

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

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.

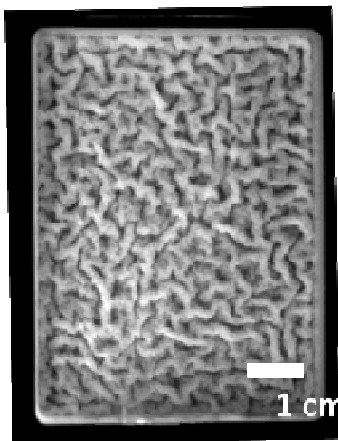
Possibilité de poursuite en thèse : à discuter

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. 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/électriques en relation avec leurs croissance/activité/connectivité.

L'étudiant(e) effectuera des mesures de force (ou de conduction et courant) et développera si besoin une instrumentation appropriée afin de déterminer les propriétés mécaniques (électriques) de différents biofilms. L'étude se fera en collaboration étroite avec des microbiologistes. Le stage pourra être suivi d'une thèse avec la possibilité d'une collaboration internationale.

(Image de gauche : Photo d'un biofilm flottant ridé)

**Laboratoire: Physical Approaches to Cell Dynamics and Tissue Morphogenesis
Institut de Biologie du Développement de Marseille**

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

Responsables de stage : Pierre Recouvreux et Pierre-François Lenne

Email : pierre.recouvreux@univ-amu.fr

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

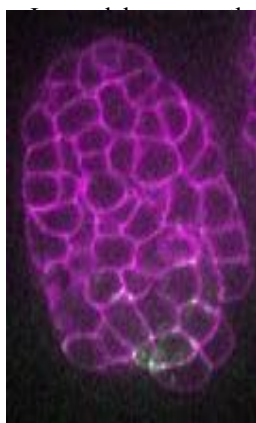
Profil recherché: Physicien ou Biologiste – Le sujet sera adapté au profil du candidat.

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Financement envisagé : BOURSE LABEX - INFORM

Titre du stage : Establishment of long-range Wnt signaling in *C. elegans* embryos

Living organisms polarize their cells and tissues during development. Creation of a polarity axis is often established by gradients of proteins, referred to as *morphogen gradients*. Though most of the molecules involved in these mechanisms are identified, how these gradients establish is poorly understood: expression, transport, diffusion and degradation must be coordinated in a spatio-temporal manner to create signaling patterns in tissues. Besides, little is known about how these instructive polarity cues are integrated at the cellular levels: how do target cells read the information contained in the morphogen gradients?



model system *Caenorhabditis elegans* to address these questions. We work in with the group of Vincent Bertrand (*Polarization and binary cell fate decisions in BDM*), specialist of the asymmetric divisions of neuronal precursors. In the late stage, neuronal precursors divide asymmetrically to give rise to two daughter cells. This process is under the control of the Wnt pathway [1]. The Wnt ligands expressed in the posterior part of the embryo, that target neuronal precursors dictate their fate.

Characterizing the mobility of the Wnt ligands in the developing tissue, in order to understand and precise the establishment of Wnt signaling is at the scale of the embryo. We use the most of the art quantitative microscopes available in our lab or on the IBDM imaging (Fluorescence microscopy, Fluorescence Correlation Spectroscopy,...) on strains carrying fluorescently tagged Wnt ligands. In particular we have developed a light-sheet microscope (a laser beam is scanned in 2D to create the light sheet) that allows us to image live embryos over their complete development with very low phototoxicity and photobleaching [2]. This set up can be used to track single molecules in the tissue and to perform structured illumination microscopy. We propose to use these technologies in combination with the development of new nematode strains to study Wnt signaling in the neuronal precursor field. The Bertrand lab has recently been successful in creating knock-in of fluorescent proteins with the CRISPR/Cas9 method, this technique will allow us to tag the endogenous Wnt receptor (Frizzled) and monitor interactions with its ligand.

This project is highly interdisciplinary and will be led in close collaboration with Bertrand lab. Our work takes advantage of our knowledge in quantitative microscopy and on the development of new imaging techniques. We also aim at providing a theoretical framework for the establishment of long range Wnt signaling that we could test in numerical simulations (Python, Matlab,...)

Keywords: Wnt, diffusion, quantitative microscopy, light sheet, CRISPR

[1] Bertrand & Hobert, Linking asymmetric cell division to the terminal differentiation program of postmitotic neurons in *C. elegans*, 2009, *Dev. Cell*

[2] Lattice light-sheet microscopy: Imaging molecules to embryos at high spatiotemporal resolution, Chen & al, 2014, *Science*

PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE

Laboratoire : Institut Lumière Matière (ILM), Equipe Biophysique

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

Responsables de stage : Jean-Paul RIEU, Christophe ANJARD, Charlotte RIVIERE

Email : jean-paul.rieu@univ-lyon1.fr

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

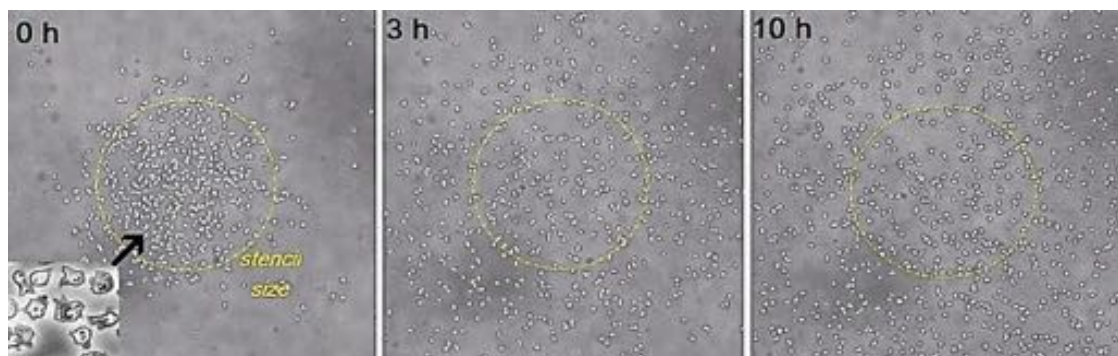
Profil recherché : Biophysicien, Physicien

Possibilité de poursuite en thèse : Oui

Financement envisagé : Allocation doctorale de Recherche des Ecoles Doctorales

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

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



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

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

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

² Joseph d'Alessandro Thèse et article en préparation

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

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : The internship will take place between ILM and INL,

Adresse : Léon Brillouin building – UCBL campus (Villeurbanne).

Directeur du laboratoire : ILM (Marie-France Joubert), INL (C. Bru-Chevallier)

Équipe de recherche (si pertinent) : Biophysique (ILM) and Microfluidic (INL)

Responsable de l'équipe : Jean-Paul Rieu (ILM) and Rosaria Ferrigno (INL)

Responsable de stage : Charlotte RIVIERE (ILM) and Magalie Faivre (INL)

Adresse électronique : charlotte.riviere@univ-lyon1.fr or 04 72 43 27 96/
magalie.faivre@univ-lyon1.fr or 04 72 43 19 12

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED52 (ED-PHAST)

Profil recherché : Candidate searching for an experimental internship in an interdisciplinary context involving concepts in physic, microfluidic, image analysis, and cell biology.

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : the candidate could be presented for ministry funding

Titre du stage : Fabrication of biomimetic microsystem to study cell migration

Résumé :

Context:

During the **metastasis process**, cancerous cells detach from the primary tumor, migrate to reach the blood circulation where they are transported by the flow towards a new site to develop a secondary tumor (1). Even though metastasis is recognized as the main cause of cancer death (2), no marker or test exist yet that could be used in clinical setting to predict the recurrence of cancer. Recently, high throughput transcriptomic analysis have been developed in order to improve cancer diagnosis (3), but again one major drawback of these methods is that they either rely on chemically fixed samples or molecular extracts obtained from a heterogeneous cell population. A very substantial progress in cancer diagnosis and prognosis would be to use **biophysical characteristics** of patient's **cancer cells** including their index of motility, **deformability** and **invasiveness** as more relevant indicators of their intrinsic capabilities in terms of metastatic spreading and drug-response. The introduction of **nanotechnologies** and **microfluidics** in biology has now made it possible to envision the **development of devices** with miniaturized environment that would **mimic *in vivo* environment**, with the clear advantages of using very small amounts of biological material in a tightly controlled fluidic environment.

Objectives:

In this context, we propose to elucidate the cellular mechanisms underlying one critical step in tumor progression: the **endothelial transmigration**. Indeed, when entering (intravasation) and exiting (extravasation) the vascular vessels, cancer cells need to transmigrate across the endothelial layer of the blood vessel walls (4,5) which **stiffness and geometric confinement** creates serious challenges to the cancer cells, requiring them to sustain drastic deformations (6,7).

Therefore, the aim of this internship is to study the *in vitro* transmigration of colorectal cancer cell lines with different metastatic characteristics in microsystems mimicking blood vessels interstices. To do so microfluidic devices implementing networks of micro-pillars and micro-channels will be developed (Figure 1). Two main aspects will be varied in order to model the *in vivo* environment associated with the endothelial barrier: the pore geometry and the pore stiffness.

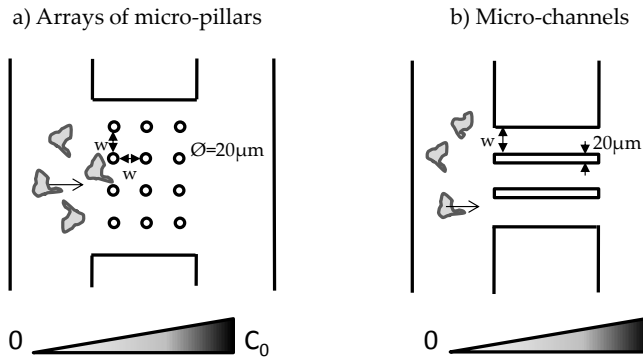


Figure 1: Microsystem for analysis of cancer cell migration. a) Configuration with arrays of micro-pillars. b) Configuration with micro-channels. The cells are injected in the left part of the device and encouraged to cross the pores section by the application of a chemical gradient of attractant.

In a first time, the candidate will fabricate and characterize the microfluidic devices obtained by soft lithography techniques. He/She will then study the behavior of the cancerous cells in such microsystems. Several parameters will be investigated such as typical deformation undergone by cells, trajectories, transit time and minimum pore size crossed. In addition, traction force generated by migrating cells will be quantified in soft pores embedded with fluorescent beads.

The project is funded by the canceropole CLARA, and the research will be done between Institut des Nanotechnologies de Lyon and Institut Lumière Matière (Lyon, France); the two laboratories are located in the same building on the UCBL site. The candidate will benefit from the microfluidic facilities provided by INL (50m² clean room) and the cell culture and bio manipulation space provided by ILM. He/She will also work in close collaboration with researchers from Centre Léon Bérard.

The internship will allow training in various areas including: biophysics, clean room technologies, microfluidic system fabrication, cell culture, time-lapse video-microscopy, traction force microscopy and image analysis.

Bibliography:

- (1) Wirtz, D.; Konstantopoulos, K.; Searson, P. C. *Nature reviews. Cancer* **2011**, *11*, 512–22.
- (2) Hayes, D. F.; Isaacs, C.; Stears, V. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* **2001**, *6*, 375– 392.
- (3) Liu, R.; Wang, X.; Chen, G. Y.; Dalerba, P.; Gurney, A.; Hoey, T.; Sherlock, G.; Lewicki, J.; Shedden, K.; Clarke, M. F. *The New England Journal of Medecine* **2007**, *356*, 217–226.
- (4) Sherwood, D. R. *Trends in cell biology* **2006**, *16*, 250–6.
- (5) Rowe, R. G.; Weiss, S. J. *Trends in cell biology* **2008**, *18*, 560–74.
- (6) Chambers, A. F.; Groom, A. C.; MacDonald, I. C. *Nature reviews. Cancer* **2002**, *2*, 563–72.
- (7) Friedl, P. *Current opinion in cell biology* **2004**, *16*, 14–23.

PROPOSITION DE SUJET DE STAGE DE M2 ET/OU DE THESE

Laboratoires : Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (LIPhy)
Laboratoire Adaptation et Pathogénie des Microorganismes (LAPM)

Adresse : Université Grenoble Alpes, Grenoble

Responsables de stage : Olivier Rivoire & Ivan Junier

Emails : olivier.rivoire@ujf-grenoble.fr, ivan.junier@ujf-grenoble.fr

Page web : <http://evophysics.net>

Physical and evolutionary bases of computation in living organisms

Even unicellular organisms such as bacteria perform a large array of "computations" to go through their cell cycle and adapt to changing environmental conditions. These biological computations certainly differ from those of digital computers, but despite spectacular advances in our capacity to characterize and modify many of the underlying molecular processes, we are still far from understanding their principles.

We combine evolutionary and physical approaches to tackle this problem. The evolutionary approach compares different species to identify their common principles. The availability of large and quantitative datasets allows us to do this statistically at the level of complete cells. The results of this approach point towards elementary physical mechanisms that we intend to model mathematically and numerically. The models will be based on notions of statistical mechanics and will mainly describe the interactions between two molecules: the DNA that carries the genetic information and the RNA polymerase that transcribes it.

The objective of the internship is to build and study these models, assess their relevance in light of available data and eventually propose experiments to test them. A good knowledge in statistical physics is required but no prior background in biology is needed if the student has the interest and motivation to learn the subject.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : : Laboratoire Jean Perrin (LJP) – UPMC – UMR CNRS 8237

Adresse : Université Pierre et Marie Curie
4 place Jussieu – T 32-33
75252 Paris CEDEX 05

Responsable de stage : Marina ELEZ et Lydia ROBERT

Email : marina.elez3@gmail.com et lydia.robert@polytechnique.org

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

Profil recherché : Biophysique

Possibilité de poursuite en thèse : Oui

Financement envisagé : éventuel financement ANR (à confirmer)

Titre du stage : **Suivi en temps réel de la dynamique de l'apparition des mutations et de leur effets au niveau des cellules vivantes uniques**

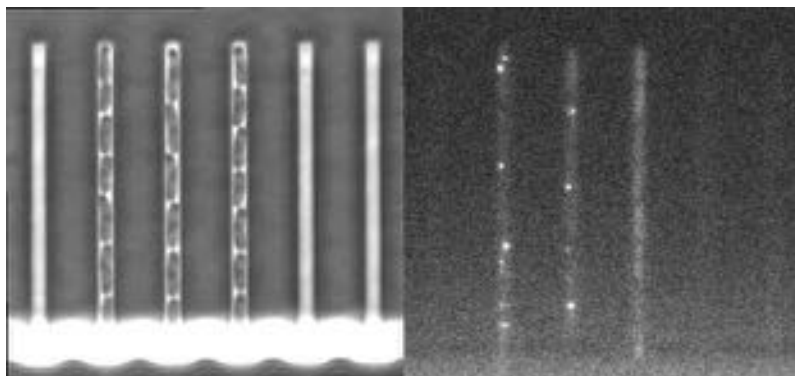
Résumé :

Les mutations sont à l'origine de toute variation génétique. La source majeure de mutations sont les erreurs de réplication de l'ADN qui échappent aux systèmes de réparation spécifiques (< 1%). Du fait de leur rareté, les mutations sont difficile à détecter. Jusqu'à présent elles n'ont été analysées qu'indirectement et les taux de mutations ont été estimés uniquement à partir des mesures moyennes faites sur des populations.

Nous avons développé une méthode qui permet, pour la première fois, de détecter les mutations en temps réel, au niveau des cellules uniques d'*Escherichia coli*¹. Cette méthode nécessite l'expression par les cellules d'une protéine MutL (protéine impliquée dans la réparation des erreurs de réplication) fusionnée à une protéine fluorescente. Les mutations, marquées par des foyers de MutL fluorescente, sont visualisées par microscopie à fluorescence. Nous combinons l'imagerie de fluorescence avec une technique microfluidique développée récemment, permettant de suivre des cellules uniques sur le long-terme (centaines de générations) dans des conditions contrôlées².

Le but de ce stage/thèse est d'analyser, grâce aux outils développés, premièrement si les taux de mutations sont constants ou pas dans des populations de cellules pendant la croissance normale, lors d'un stress, ou au cours du vieillissement.

Notre système de détection de mutation est unique puisqu'il permet la détection des mutations indépendamment de leur phénotype, i.e. les mutations sont détectées avant la sélection. Cela permet, pour la première fois, de détecter même les mutations létales. Donc, le deuxième but de ce stage de M2/thèse est d'établir la distribution des effets des mutations sur la "fitness" (valeur sélective), en particulier le taux de mutations délétères, neutres, létales, et bénéfiques.



Images en contraste de phase (à gauche) et en fluorescence (à droite) de cellules d'*Escherichia coli* exprimant la protéine MutL fluorescente et poussant dans des canaux microfluidique. Les spots de MutL fluorescents marquent les mutations émergentes.

1. Elez et al. Seeing mutations in living cells *Curr Biol* 2010 Aug 24; 20(16):1432-7

2. Wang P*, Robert L* et al. Robust growth of *Escherichia coli* *Curr Biol* 2010 Jun 22; 20(12):1099-103

« 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

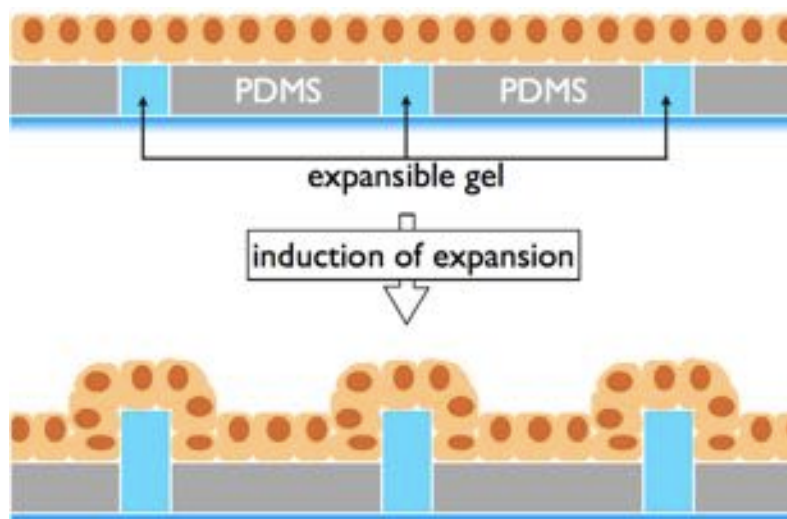
Possibilité de poursuite en thèse : oui

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

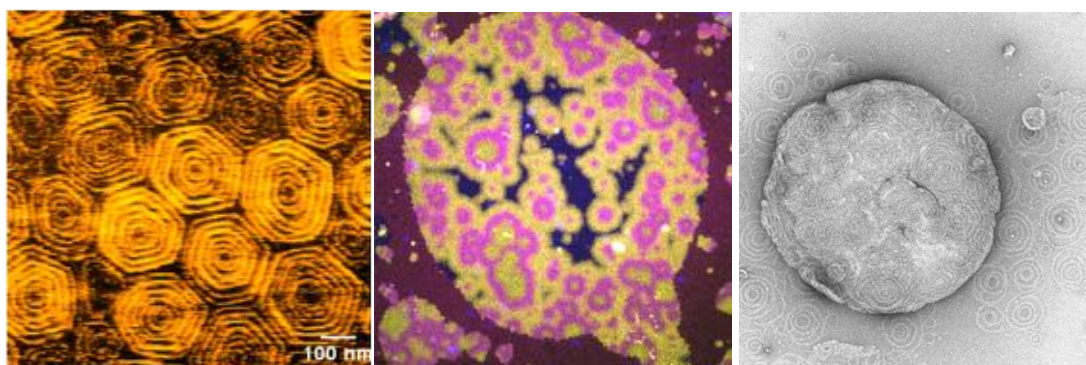
Financement envisagé : jusqu'à 5 ans de thèse financés sur fonds propres (ERC, Fonds National Suisse, Fonds du départements). Thèse en 3 ou 4 ans tout à fait possible. Salaire brut annuel : 46 000 CHF (36 000 euros)

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 ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : INSERM U869 - Institut Européen de Chimie et Biologie

Adresse : 2 rue Robert Escarpit – Université de Bordeaux ; campus de Pessac

Directeur du laboratoire : Jean-Louis MERGNY

Équipe de recherche (si pertinent) :

Responsable de l'équipe : Jean-Louis MERGNY

Responsable de stage : Gilmar SALGADO

Adresse électronique : gilmar.salgado@inserm.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : Science de la Vie de Bordeaux
<http://www.edsvs.u-bordeaux2.fr/version2/index.php>

Profil recherché : Biochimie/biophysique/biologie structurale.

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : ANR demandé – concours bourse du ministère

Titre du stage : Etudes des acides nucléique G-quadruplexes par RMN et conception de nouveaux ligands avec des propriétés anti-cancer.

Résumé :

Le projet vise à étudier par plusieurs méthodes (CD, RMN, HPLC, UVvis) les propriétés biophysiques de l'ADN G-quadruplexe et leurs interactions avec de petits ligands. Les G-quadruplexes (G4) sont des structures secondaires que peuvent adopter les ADN (G4-DNA) ou ARN (G4-RNA) riches en guanines. Elles ont été étudiées de manière détaillée *in vitro*, et il a été montré qu'elles se formaient dans des conditions de salinité et de pH physiologiques, et que de nombreuses protéines étaient capables de fixer, stabiliser, ou au contraire dérouler ces structures. Des études bio-informatiques récentes révèlent une forte présence de séquences potentiellement capables de former des G-quadruplexes dans l'ensemble des génomes analysés jusqu'alors. Ces séquences sont fortement enrichies à certains loci surtout au niveau des promoteurs, en particulier d'oncogènes. Ceci suggère un rôle conservé de contrôle, d'épissage ou de traduction pour ces structures secondaires. On suivra par RMN l'interaction de ces molécules marquées avec des petits ligands. Le projet bénéficiera de la plateforme de biologie structurale de l'IECB, comportant deux RMN à très haut champ (700 & 800 MHz) et bénéficiera de l'expertise en biophysique des acides nucléiques des membres de l'équipe. En parallèle, mais insérée dans le même projet, le candidat travaillera à l'interface avec les groupes de biophysique (Dr. Jean-Louis Mergny), de chimie (Prof. Philippe Barthelemy) et de biologie (Dr. C. Cazenave), afin de étudier les G-quadruplex *in cellulo*.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : [Laboratoire d'Optique et Biosciences – CNRS UMR7645 – INSERM U1182 – Ecole Polytechnique](#)

Adresse : [Ecole Polytechnique, 91128 Palaiseau](#)

Responsable de stage : [M.-C. Schanne-Klein](#)

Email : marie-claire.schanne-klein@polytechnique.edu

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : [ED Interfaces](#)

Profil recherché : [formation avancée en physique et bases de biologie – Des bases d'optique non-linéaire et de biophotonique seront appréciées, mais ne sont pas indispensables \(formation en cours de thèse\).](#)

Possibilité de poursuite en thèse : [OUI](#)

Financement envisagé : [allocation ED Interfaces ou Idex ou Monge](#)

Titre du stage : [Microscopie optique non-linéaire résolue en polarisation de la cornée humaine.](#)

Résumé :

Le développement de la microscopie optique non-linéaire a constitué ces dernières années une avancée importante pour l'imagerie tridimensionnelle (3D) des tissus biologiques. En particulier, la génération de second harmonique (SHG) permet de visualiser le collagène fibrillaire avec un contraste inégalé et sans aucun marquage préalable, ce qui n'est pas possible par les techniques d'imagerie classiques. Or le collagène est l'élément majeur de l'architecture des organes chez les mammifères. Ce biopolymère forme divers assemblages macromoléculaires spécifiques de chaque tissu et responsables de ses propriétés biophysiques et mécaniques. La caractérisation *in situ* de l'organisation 3D du collagène est ainsi un enjeu biomédical majeur, tant pour en sonder la désorganisation dans de nombreuses pathologies, que pour comprendre la structuration d'organes tels que la cornée ou la peau et ainsi guider l'ingénierie de substituts tissulaires.

Cependant, la microscopie SHG ne permet pas de résoudre l'architecture du collagène à l'échelle sub-micrométrique, et donne des images complexes à interpréter car résultant des interférences entre les champs harmoniques rayonnés par les différentes structures présentes dans le volume focal. Pour pallier ces problèmes, nous avons développé une modalité polarimétrique sur notre microscope SHG afin de tirer parti de l'excellente sensibilité de cette approche à la distribution d'orientation dans le volume focal. Nos résultats récents (expériences et modélisations) montrent que nous pouvons ainsi caractériser de manière quantitative la structure de cornées humaines *ex vivo* et de cornées de rats *in vivo*.

L'objectif de cette thèse est de développer des mesures complètes du tenseur de réponse SHG, notamment des composantes chirales caractéristiques de l'organisation hélicoïdale du collagène. Ce type de mesures doit permettre de caractériser plus finement des architectures complexes telles que celles présentes dans la cornée, mais aussi dans les os ou les cartilages. Les expériences seront tout d'abord développées sur des systèmes modèles constitués d'organisations cristal-liquides de collagène, et corrélées à des mesures plus résolutes (microscopies électronique ou à force atomique). Cette étude sera ensuite appliquée à la caractérisation quantitative de substituts tissulaires et à la détection de remodelages tissulaires liés à des pathologies ou à des contraintes mécaniques. Des expériences seront notamment réalisées sur des cornées humaines à usage scientifique de la Banque Française de Yeux afin de développer un outil de diagnostic des dystrophies cornéennes.

Renseignements complémentaires : <http://www.lob.polytechnique.fr/accueil/la-recherche/microscopies-avancees-et-physiologie-des-tissus/generation-de-second-harmonique-dans-les-tissus-biologiques/>

« 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 / **Phone :** 01 56 24 67 83

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : « Physique en Île de France » ou « Frontières du vivant »

Profil recherché: Physicist or Biologist with a strong motivation for quantitative biology

Possibilité de poursuite en thèse : oui

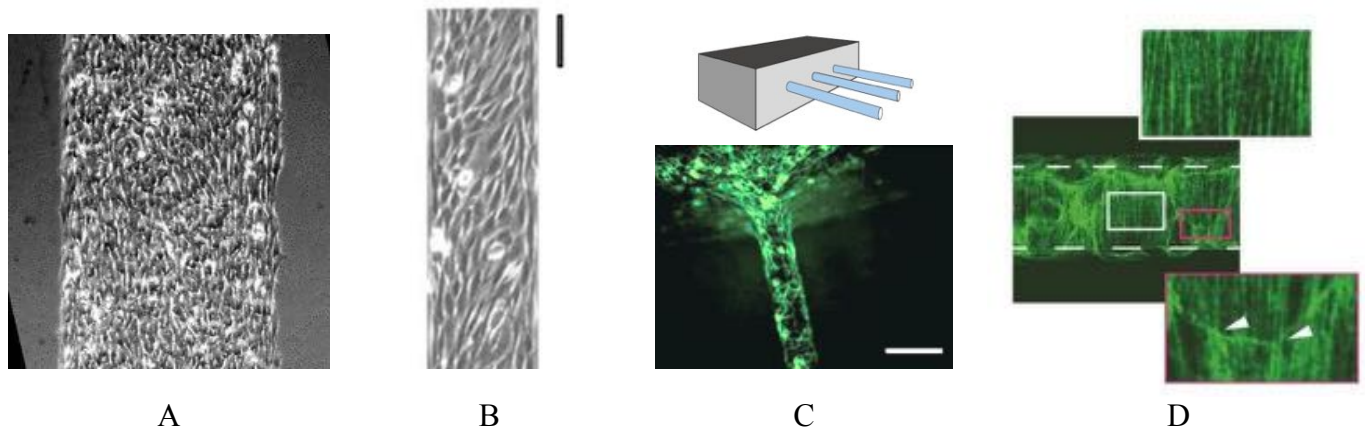
Financement envisagé : TBD

Confined and shaped cell populations: 2D, 3D and beyond

Cells in contact within a tissue routinely organize spatially. For example, elongated fibroblasts confined in an adherent thin stripe align in the stripe direction. Such organizations rely on the collective: They cannot be explained only by the behavior of individual single cells and their study requires specific experiments.

In the present project, we propose to quantify cell organizations in vitro, in various well-controlled environments. We will first study the dynamics of the local orientation and the emergence of chirality of fibroblasts or fibroblast-like cells cultured in micropatterned/microfabricated environments. Then, motivated by in vivo observations, we plan i/ to transpose these experiments to shaped surfaces (model wires or spheres) and ii/ to quantify the transition from 2D (monolayer) to 3D (cell cords, spheroid or cysts) that cells spontaneously undergo upon confinement.

This experimental project may involve methodological developments, as well as collaborating with theory groups.



A/ 3T3 fibroblasts align perfectly in a micropatterned stripe ($w=400\mu\text{m}$) (macro contact guidance) **B/** C2C12 cells are an example of cells displaying chirality when confined in stripes. The handedness is dependent on the functionality of the actin cytoskeleton. Bar = $100\mu\text{m}$. phase contrast. **C/** Cells plated on cylindrical wires wrap around them and acquire an out-of-plane curvature. Bar = $100\mu\text{m}$. MDCK cells. **D/** For sufficiently thin wires ($R < 40\mu\text{m}$), the actin cytoskeleton (green) of MDCK epithelial cells organizes circumferentially. The actin fibers, located at the basal plane, appear continuous from one cell to the next, demonstrating a mechanical continuity (white triangles). $R = 20\mu\text{m}$.

Major group publications (3 years)

- 1/ Nier V., Deforet M., Duclos G., Yevick H.G., Cochet-Escartin O., Marcq P., Silberzan P.: *Tissue fusion over non-adhering surfaces*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **112**, (2015), 9546.
- 2/ Yevick H.G., Duclos G., Bonnet I., Silberzan P.: *Architecture and migration of an epithelium on a cylindrical wire*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **112**, (2015), 5944.
- 3/ Deforet M., Hakim V., Yevick H., Duclos G., Silberzan P.: *Emergence of collective modes and tridimensional structures from epithelial confinement*. Nat. Commun. **5**, (2014), 3747.
- 4/ Duclos G., Garcia S., Yevick H. G., Silberzan P.: *Perfect nematic order in confined monolayers of spindle-shaped cells*. Soft Matter **10**, (2014), 2346.
- 5/ Reffay M., Parrini M. C., Cochet-Escartin O., Ladoux B., Buguin A., Coscoy S., Amblard F., Camonis J., Silberzan P.: *Interplay of RhoA and mechanical forces in collective cell migration driven by leader cells*. Nat. Cell. Biol. **16**, (2014), 217.
- 6/ Deforet M., Parrini M. C., Petitjean L., Biondini M., Buguin A., Camonis J., Silberzan P.: *Automated Velocity Mapping of Migrating Cell Populations (AVeMap)*. Nat. Meth. **9**, (2012), 1081.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : INSERM UMR 1141, Université Denis Diderot (P7)

Adresse : Hôpital Robert Debré, 48 bd Sérurier, 75019 PARIS

Directeur du laboratoire : Pierre GRESSENS

Équipe de recherche (si pertinent) : Promoting Research oriented towards early CNS therapies

Responsable de l'équipe : Pierre RUSTIN

Responsable de stage : Nadia SOUSSI-YANICOSTAS

Adresse électronique : nadia.soussi@inserm.fr

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

Profil recherché : Biologie, Physique

Possibilité de poursuite en thèse : OUI –NON

Si oui, financement envisagé : Allocations du Ministère de la Recherche

Titre du stage : **Rôle de l'activation microgliale dans la pathologie de Tau**

Résumé :

Les cellules microgliales sont des macrophages résidents du cerveau des vertébrés dont on découvre à peine les nombreuses fonctions. Ce sont des “sentinelles-secouristes” qui : (i) contrôlent en permanence l'homéostasie du tissu nerveux et (ii) participent à sa défense immunitaire par le biais d'un programme complexe et contexte-spécifique d'activation. Il existerait un d'état d'activation “classique”, ou état M1, au cours duquel la microglie sécrète des molécules pro-inflammatoires et cytotoxiques. Ce processus est souvent suivi d'un état M2, durant lequel la microglie produit des molécules anti-inflammatoires et neurotrophiques pour résoudre la lésion et restaurer l'homéostasie du tissu nerveux.

Des travaux très récents suggèrent que la microglie joue des rôles très importants et jusque là ignorés, dans la pathophysiologie de nombreuses maladies neurodégénératives, comme les maladies de la protéine tau, les tauopathies. Toutefois, ces rôles sont multiples et complexes, car si l'état M2 semble bénéfique sur l'évolution de la maladie, il apparaît de plus en plus que l'état M1 est un élément intrinsèque des processus pathologiques, voire, un des principaux acteurs. Dans ce contexte, la possibilité de manipuler l'activation de la microglie ouvre de perspectives très prometteuses sur le plan thérapeutique. A ce jour, l'étude de la microglie s'est avérée délicate du fait qu'elle est constituée de cellules dispersées et extrêmement sensibles à l'environnement. Pour contourner cette limitation et étudier *in vivo* les relations entre la microglie et les neurones “malades”, nous tirons avantage des caractéristiques de l'embryon de poisson zèbre, en particulier sa transparence pour visualiser les interactions entre les cellules microgliales et les neurones malades dans le cerveau intact en temps réel grâce à nos poissons transgéniques qui expriment des formes pathologiques de Tau couplée à des marqueurs fluorescents qui marquent la microglie. Avec ces outils, nous voulons : (i) mieux comprendre le rôle des cellules microgliales dans les pathologies de Tau, (ii) tenter de moduler l'activité de ces cellules *in vivo* pour stimuler leurs capacités neuro-protectrices et (iii) étudier les effets de cette neuro-protection sur les neurones malades.

Quelques publications récentes sur le sujet :

1. J. Sepulveda-Diaz, M. Alavi Naini, MB. Huynh, M. Ouidja, C. Yanicostas, S. Chantepie, J. Villares, F.Lamari, A. Mensah- Nyagan8, R. Raisman-Vozari, [N. Soussi-Yanicostas*](#), D.Papy-Garcia*. 3-O-sulfotransferase-2 expression is critical for the abnormal phosphorylation of tau in Alzheimer's disease-related tau pathology. *Brain*. 2015 (in press), *Co last and corresponding authors.

2. S. Alavi Naini & [N. Soussi-Yanicostas](#). Tau hyperphosphorylation and oxidative stress, a critical vicious circle in neurodegenerative tauopathies? *Oxidative Medicine and Cellular*. 2015

3. G houmid, D revillon, S M Alavi-Naini, Bondurand, M Rio, A Briand-Suleau, M Nasser, L Goodwin, P, Raymond, C Yanicostas, M Goossens, S Lyonnet, D Mowat , J Amiel, [N Soussi-Yanicostas](#) , I. Giurgea. ZEB2 zinc-finger missense mutations lead to hypomorphic alleles and a mild Mowat-Wilson. Syndrome.

Hum Mol Genet. 2013; 22(13): 2652-61

Brevet : [Soussi-Yanicostas N](#), Yanicostas C, Alavi-Naini MS. 2012. International patent (deposit number: PCT/EP2012106523). Materials and methods for the treatment of tauopathies.

Projects on Single-Cell Dynamics in Amsterdam

Contact: prof. Sander J. Tans, tans@amolf.nl, tansgroup.amolf.nl

Address: AMOLF institute Amsterdam, Science Park 104, 1098 XG Amsterdam

Profile: we look for excellent candidates with a physics, biology, or chemistry background

Thesis possibility: yes

Financial support & housing help: yes

Articles from our lab:

Kiviet, D. J. *et al.* Stochasticity of metabolism and growth at the single-cell level. *Nature* **514**, 376-379, (2014)

Boulineau, S. *et al.* Single-Cell Dynamics Reveals Sustained Growth during Diauxic Shifts. *PLoS One* **8**, (2013)

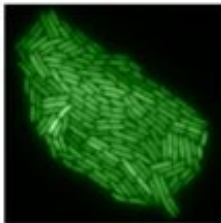
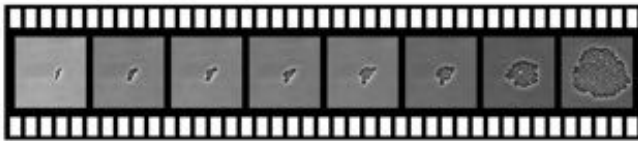
Mashaghi, A. *et al.* Reshaping of the conformational search of a protein. *Nature* **500**, 98-125, (2013)

Poelwijk, F. J., *et al.* Tradeoffs and Optimality in the Evolution of Gene Regulation. *Cell* **146**, 462-470, (2011)

Master internship project 1

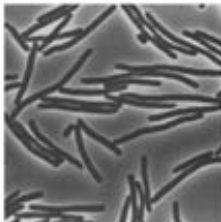
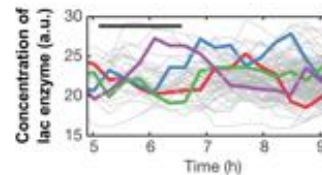
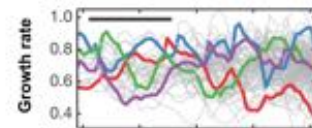
Fluctuations, stress and size

Investigating single cell behavior of stressed cells.



Survival of cells depends on expressing the right proteins at the right time. But expressing proteins always includes randomness. Even in the same environment, genetically identical *Escherichia coli* cells show different protein expression (left). Using time lapse movies (top), genetic engineering, and computer processing we investigate the behavior of individual cells. This e.g. shows that for individual cells gene expression and even growth rate fluctuate over time (right).

Single cell growth & expression traces



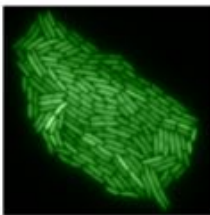
The project

It is known that bacterial cells respond to stress by making themselves longer (filamentation). It is also known that cells that have more volume show less fluctuations in protein expression. We want to investigate if there is a connection between these two observations, and more in general what the effect of elongation is on protein dynamics.

Master internship project 2

Cells killing each other

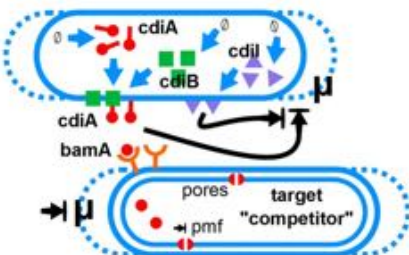
Investigating single cell behavior of killers.



A Science publication in 2005 (Aoki *et al.*) showed that an *Escherichia coli* strain isolated from rats could inhibit other bacteria through a contact dependent mechanism. Thus killing their competitors. A popular term coined for this was "toxins on a stick".

The image below shows that only three genes (*cdiA*, *cdiB* and *cdiI*) are necessary to turn a cell into one that inhibits growth of other cells.

Since this phenomenon has never been observed directly, we want to use our microscopy setups, which allow visualizing single cell behavior (picture left), to capture this interesting phenomenon.



The three CDI genes (contact dependent inhibition) give cells the ability to inhibit other cell's growth rate (often referred to by the Greek symbol μ). They also protect themselves against the toxins they produce with the *cdiI* gene. The toxins are thought to target *bamA* membrane protein.

Other projects:

- 1) **Evolution** of bacteria in time and space.
- 2) Single-cell dynamics within **mini-organs** (organoids).

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Inserm U970- Université Paris Descartes (Paris Cardiovascular Research Center (PARCC)) et Matière et Systèmes Complexes, MSC Université Paris Diderot

Adresse : Inserm U970, 56 rue Leblanc 75015 Paris et MSC, 10 rue A. Domon et L. Duquet, 75205 Paris

Responsable de stage : Bertrand TAVITIAN (Inserm U970), Florence GAZEAU et Amanda SILVA (MSC)

Email : , bertrand.tavitian@inserm.fr, florence.gazeau@univ-paris-diderot.fr, amanda.brun@univ-paris-diderot.fr
N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED PIF

Profil recherché : Physicien / biologiste ou chimiste motivé par l'imagerie médicale et les nouvelles thérapies.

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : financement équipe

Extracellular microvesicles translation from an intercellular messenger into a bio-camouflaged vector for cancer therapy: following vesicle track *in vivo* by a multimodal approach

Résumé :

State-of-the-art

Extracellular vesicles (EVs) are membrane-delimited sub-cellular entities released by cells in a constitutive manner or in response to stress. EVs contain membrane proteins and lipids, as well as cytoplasmic components, in a pattern that depends on the type of stimulation and pathophysiology of parent cells. The extraordinary ability of EVs to transfer material between neighbor and distal cells represents a far-reaching intercellular communication pathway that controls cell signaling. (*Boulanger et al. Hypertension* 48, 180-186 (2006) ; *De Jong et al. Frontiers in Immunology* 5 (2014)).

Cancer induces a considerable increase in EV circulating levels in patients with respect to the levels in healthy subjects. Importantly, malignant cells actively communicate through continuous release of vesicles during tumor progression. Inside a tumor, cancer cell-derived EVs are transferred throughout the cancer cell population and also to stromal cells and endothelial cells. These EVs are used by cancer cell to acquire selective growth advantage, drug-resistance or aggressive phenotypes (*Muralidharan-Chari et al, J. Cell Sci.* 123, 1603-1611 (2010)). Some reports have also evidenced interactions of cancer cells with vesicles released from non-malignant cells, a mechanism that may lead to escape from control by the immune system.

Considering the importance of vesicle-mediated communication in cancer, our group proposes to translate naturally occurring vesicles into intrinsically biocompatible bio-inspired theranostic nanovectors for cancer therapy. Our previous efforts focused on engineering EVs encapsulating a set of nanoparticles of diverse chemistries or shapes (*Silva, A. K. et al. Nanoscale* 5, 11374-11384 (2013)). We designed single component or multicomponent magnetic, magnetic-fluorescent and magnetic-metallic hybrid nanovesicles as vectors for *in vivo* imaging. We showed that merging the imaging and heating features of each integrant nanoparticle is advantageous for *in vivo* applications. We also demonstrated that vesicles could be loaded with carbon nanotubes (*Marangon, I. et al. Nano Letters* 12, 4830-4837 (2012)), iron oxide nanoparticles and different therapeutic agents such as a chemotherapeutic drug (doxorubicin), anticoagulant protein (tissue-plasminogen activator (t-PA)), two photosensitizers (disulfonated tetraphenylchlorin (TPCS2a) (*Silva, A. K. et al. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 11, 645-655 (2015)) or 5,10,15,20-tetra(m-hydroxyphenyl)chlorin (mTHPC)). Interestingly, we showed that vesicles loaded with magnetic nanoparticles and mTHPC can achieve image-guided therapy in an ectopic tumor model in mice (*Silva, A. K. et al. ACS nano* 7, 4954-4966 (2013)).

It is important to highlight that image-guided therapy is a key issue that resonates with the need to enable real-time tracking of drug carriers for precise tumor addressing and to validate nanosystem accumulation at the target. Particularly, multimodal imaging has received increasing interest considering that each imaging modality has unique strengths and intrinsic limitations. Multimodality offers the opportunity to take advantage of the strength of each individual technique (e.g. sensitivity, resolution) while minimizing their limitations.

Biocamouflaged multimodal “theranostic” (*therapy plus diagnostic*) approaches, such as drug/nanoparticle-loaded EVs, are particularly attractive for the management of cancer types for which treatment options are notoriously limited. This concerns in particular several gastrointestinal and gynecological malignancies that disseminate in the peritoneum where they induce peritoneal carcinomatosis, still considered today a terminal stage disease (Coccolini, F *et al. World J Gastroenterol* 19, 6979 (2013)). Current therapeutic regimens of peritoneal carcinomatosis remain ineffective or have at best very modest effects on patient survival.

Objectives and methods

The aim of the present project is to investigate the biodistribution of hybrid EVs via multimodal imaging methods in a clinically relevant orthotopic tumor model of peritoneal carcinomatosis.

In the attempt to target tumor cells, vesicles will be produced from mesenchymal stem cells (MSC). MSCs are an obvious first choice given their inherent tumor-trophic migratory properties (Kidd, S. *et al. Stem cells* 27, 2614–2623 (2009)). MSC-derived EVs are expected to inherit the same spontaneous tumor homing features. In order to test this hypothesis, the biodistribution of MSC-derived vesicles, macrophage-derived vesicles and liposomes will be compared.

EVs will be produced by methods under development in the laboratory Matière et Systèmes Complexes. We have developed a new microfluidic technique with promising results in terms of yield and production time (PhD Max Piffoux, laboratory Matière et Systèmes Complexes). Briefly, exerting a controlled mechanical stress while cells are constrained to cross microchannels at high speed, leads to membrane budding and EV-type vesicle release. Interestingly, this approach releases the time constraint on EV production and makes it compatible with loading of reporter probes for imaging.

EVs will be endowed with multimodal imaging features by encapsulation of MRI contrast agents (iron oxide nanoparticles, gadolinium oxide nanoparticles), a fluorescent tracer such as ICG, and 2'-deoxy-2^[18 F]fluoro-D-glucose (FDG). Such trivalent loading will enable coupling three imaging modalities - MRI, probe-based confocal laser endomicroscopy (CellVizio) and positron emission tomography (PET). Thereby, quantification and sensitivity of PET will be combined to the spatial resolution of MRI and CellVizio. Multimodal imaging investigation will be performed in a facility dedicated to small animals (Plateforme d'Imageries du Vivant - PIV at the PARCC – HEGP). The encapsulation of imaging tracers will be carried out either by pre-loading the parental cells, or by electroporation of the produced EVs. Alternatively, direct loading of EVs by passive or active transport will be investigated. After EV production and loading, EVs will be characterized *in vitro* and then injected intravenously or intraperitoneally *in vivo* in a clinically relevant orthotopic tumor model of peritoneal carcinomatosis. The model consists in athymic mice grafted with patient-derived xenograft representing the heterogeneity of human cancer from a large collection of patient tumor samples (CREMEC collection).

Expected results

Multimodal imaging is expected to provide new knowledge on the fate of hybrid vesicles in a living organism, and to determine the influence of the cell type and the administration route on the biodistribution pattern of EVs. Results will provide support for rationally designing a vesicle-mediated therapeutic protocol for peritoneal carcinomatosis therapy in an orthotopic clinically relevant model that recapitulates the features of the human disease. This project has a strong translational potential.

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
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].

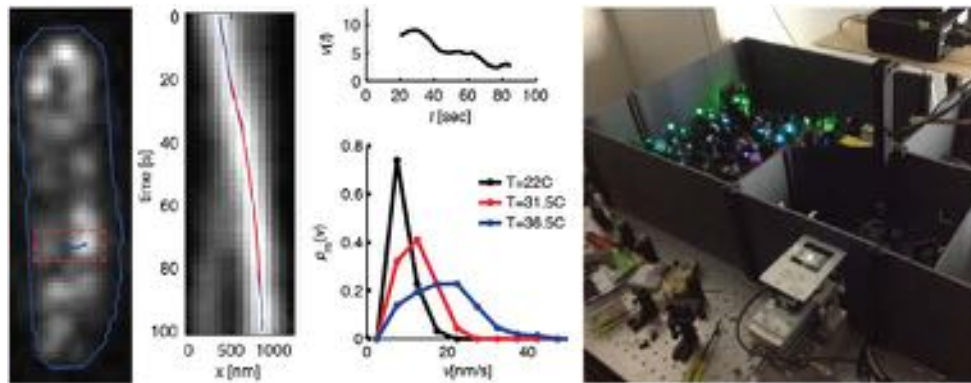


Figure: MreB dynamics as followed by fluorescence video microscopy (snapshot, kymograph, single-filament velocity, velocity distribution, fluorescence microscope).

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

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : CytoMorphoLab

Adresse : Unité de Thérapie Cellulaire, Hôpital Saint Louis, 1 Av. Claude Vellefaux, 75010, Paris

Directeur du laboratoire : Manuel THERY

Équipe de recherche (si pertinent) : CEA / INSERM U1160

Responsable de l'équipe : Manuel THERY

Responsable de stage : James SILLIBOURNE / Manuel THERY

Adresse électronique : james.sillibourne@cea.fr / manuel.thery@cea.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : HOB 273

Profil recherché : M2 / biologie / biochimie / physique /

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

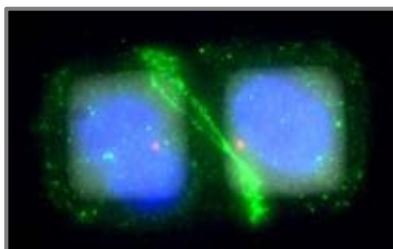
Si oui, financement envisagé : bourse du CEA ou de l'école doctorale

Titre du stage : The Role of Centrosome Positioning in Establishing Cell Polarity

Résumé :

A Master's project is available in the CytoMorphoLab at the Hôpital Saint Louis in Paris. The project will explore the mechanisms controlling the position of the centrosome, the main microtubule-organizing centre, in polarized epithelial cells.

Epithelia form the skin and line the internal organs of the body to create a protective barrier against pathogens. These cells exhibit a defined polarity that is established by the directed trafficking of polarity factors to the apical and basal surfaces of the cell. The centrosome plays a pivotal role in this process, as it is responsible for nucleating and organizing microtubules, along which molecular motors move and transport polarity factors to their appropriate destination. Maintaining epithelial polarity is crucial, as its loss can provoke an epithelial to mesenchymal transition (EMT), leading to the migration of cells out of the epithelium and the loss of epithelium integrity. Most cancers are of epithelial origin, emphasizing the importance of understanding how cell polarity is established and maintained.



Centrosome Positioning in a Simple Model Epithelium

Two kidney cells growing on a micropattern. The nuclei are above the adhesive micropattern (grey squares), while the centrosomes are positioned towards the intercellular junction instead of at the cell's centre.

We are using a simple model epithelium, consisting of two cells growing on an adhesive micropattern to investigate the mechanisms responsible for controlling centrosome positioning. In this system the centrosome is frequently located close to the intercellular junction instead of at the centre of the cell.

The aim of the Master's project is to identify the mechanisms responsible for mediating centrosome positioning towards the intercellular junction. This will involve using RNAi to deplete candidate proteins from the cell and assessing their role in centrosome positioning. The successful candidate will gain experience of a number of different techniques during the course of the project, including adhesive micropatterning, cell culture, fluorescent microscopy and transient transfection of siRNA/DNA.

For more information see: Tseng et al., PNAS, 2012 and Godinho et al., Nature, 2014 and the lab web page <http://cytomorpholab.com/>.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire: Unité de Virologie Structurale

Adresse: Unité de Virologie Structurale. Département de Virologie. Centre Francois Jacob. 28, Rue du Docteur Roux. 75724 PARIS cedex 15, France. (33) 01 40 61 35 75

Responsable de stage : M. Alejandra Tortorici, PhD.

Email: tortoric@pasteur.fr

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

Profil recherché : A high degree of motivation and a willingness to work in a very competitive field are primary requisites. Also a previous experience in: DNA techniques (PCR, cloning, agarose gels, DNA purification, minipres, etc) and protein expression and purification techniques (eukaryotic expression systems i.e.: mammalian and insect cells, affinity columns, gel filtration, protein gels, etc) would be greatly appreciated but it is not mandatory.

Possibilité de poursuite en thèse : yes

Financement envisagé: Possible

Titre du stage: Structural characterization of the Coronavirus surface spike (S) glycoprotein

Résumé:

Introduction

Coronaviruses (CoVs) are enveloped, plus-strand RNA viruses belonging to the family *Coronaviridae* in the *Nidovirales* order. They infect a wide variety of mammalian and avian species. In most cases they cause respiratory and/or intestinal tract disease. Human coronaviruses (hCoVs) are known as major causes of the common cold (e.g. NL63). However, the emergence of new hCoVs of zoonotic origin has shown the potential of CoVs to cause life-threatening disease in humans as was demonstrated during the 2002/2003 SARS-CoV epidemics and more recently for MERS-CoV in the Middle East. The well-studied mouse hepatitis virus (MHV) is often used as a safe model to study CoV infections. The primary determinants of coronavirus host and cell tropism are in the S glycoprotein, which binds to a cell surface receptor and subsequently induces fusion of viral and cellular membranes for entry. Structural studies with peptides spanning the coiled coiled region in the post-fusion form have shown that S is a class I membrane glycoprotein, assembled as trimers that constitute the characteristic peplomers that give the virus particle the appearance of a crown in projections observed by negative stained electron microscopy. Functionally, two S regions can be defined, S1 and S2, which are involved in binding to and fusion with host cells, respectively. Although the structures of the receptor binding domain of the NL63, MHV-SARS- and MERS-CoV and their complex with receptor have been described (1-5), no structural information of the full-length ectodomain of S is available for any coronavirus. Because of the high molecular mass of the coronavirus spike protein (the functional trimer is about 450 kDa), we initiated its cryo-electron microscopy (cryo-EM) structural characterization in collaboration with Dr. Veessler's laboratory in Seattle, US.

Preliminary results and conclusions

We have expressed the intact S ectodomain from MHV- and NL-63-CoV in insect cell, purified them and characterized them biophysically (data not shown). Dr. Veessler has obtained a 3D reconstruction by electron cryo-microscopy, currently at ~4.0 Å and ~6 Å resolution respectively (data not shown). We have traced about 80% of the S polypeptide chain in the electron density map of MHV S and we are currently in the process of improving it using 3D image classification and related procedures. Our results indicate striking differences between the Coronavirus and the well characterized class I membrane glycoproteins from influenza, parainfluenza or respiratory syncytial viruses.

Project for the Candidate

Following our results with MHV- and NL63-CoV spikes, the plan for the candidate will be to participate in the production, biophysical and structural characterization of the S ectodomain from MERS-CoV. In parallel, the student will participate in the production of the ectodomain from the receptors for MHV-, NL63- and MERS-CoV, as well in the production of recombinant Fab fragments of neutralizing antibodies against these viruses.

References

1. Li F, Li W, Farzan M, Harrison SC. 2005. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. *Science* **309**:1864-1868.
2. Wang N, Shi X, Jiang L, Zhang S, Wang D, Tong P, Guo D, Fu L, Cui Y, Liu X, Arledge KC, Chen YH, Zhang L, Wang X. 2013. Structure of MERS-CoV spike receptor-binding domain complexed with human receptor DPP4. *Cell Res* **23**:986-993.
3. Lu G, Hu Y, Wang Q, Qi J, Gao F, Li Y, Zhang Y, Zhang W, Yuan Y, Bao J, Zhang B, Shi Y, Yan J, Gao GF. 2013. Molecular basis of binding between novel human coronavirus MERS-CoV and its receptor CD26. *Nature* **500**:227-231.
4. Wu K, Li W, Peng G, Li F. 2009. Crystal structure of NL63 respiratory coronavirus receptor-binding domain complexed with its human receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**:19970-19974.
5. Peng G, Sun D, Rajashankar KR, Qian Z, Holmes KV, Li F. 2011. Crystal structure of mouse coronavirus receptor-binding domain complexed with its murine receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* **108**:10696-10701

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Unité de Virologie Structurale

Adresse : Unité de Virologie Structurale. Département de Virologie. Centre Francois Jacob. 28, Rue du Docteur Roux. 75724 PARIS cedex 15, France. (33) 01 40 61 35 75

Responsable de stage : M. Alejandra TORTORICI, PhD.

Email : tortoric@pasteur.fr

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

Profil recherché : A high degree of motivation and a willingness to work in a very competitive field are primary requisites. Also a previous experience in: DNA techniques (PCR, cloning, agarose gels, DNA purification, minipres, etc) and protein expression and purification techniques (eukaryotic expression systems i.e.: mammalian and insect cells, affinity columns, gel filtration, protein gels, etc) would be greatly appreciated but it is not mandatory.

Possibilité de poursuite en thèse : yes

Financement envisagé: Possible

Titre du stage: Structural and functional characterization of Pestivirus non-structural protein 2, 3 and 4

Résumé:

Introduction

Pestiviruses infect a wide range of cloven-hoofed animals, wild and domestic, causing serious disease. The most studied are the classical swine fever virus (CSFV) (1) and the bovine viral diarrhea virus (BVDV), which impose important economic losses to the livestock industry worldwide (2). They form a genus within the *Flaviviridae* family of single-stranded RNA viruses, which also includes medically important pathogens in the flavivirus and hepacivirus genera. The pestivirus genome is a single mRNA molecule of about 12.3 kb with a single large open reading frame (ORF) coding for a polyprotein precursor of about 3,900 residues. This long ORF is flanked by 5' and 3' untranslated regions with cis-active elements essential for virus translation and replication (2). The polyprotein is co- and post-translationally processed by cellular and viral proteases to yield the individual mature viral proteins. The nonstructural proteins NS2 through NS5B are present only in infected cells and are essential for virus replication. Among them, NS2 (a cysteine protease), NS5B (the RNA dependent RNA polymerase), and NS3 have enzymatic activities. NS3 has a molecular mass of about 76 kDa and features two main functional domains, each with different enzymatic activities. The N-terminal domain is a chymotrypsin-like serine protease (NS3p), which is responsible for most of the maturation cleavages of the polyprotein precursor in the cytosolic side of the endoplasmic reticulum membrane; the exception is the NS2/NS3 junction. The C-terminal domain, about two-thirds of NS3, is a helicase belonging to superfamily 2 (SF2) that displays characteristic sequence motifs that constitute the SF2 signature. NS3 helicase domain (NS3h) features two conserved RecA-like domains (D1 and D2) with ATPase activity, plus a third domain (D3) that is important for unwinding nucleic acid duplexes. Despite the fact that several NS3 enzymes have been characterized both structurally and functionally for different members of *Flaviviridae*, i.e., the hepatitis C virus (HCV) and dengue virus (DENV), important questions remain. For instance, how do positive-strand RNA viruses switch from RNA replication to virion morphogenesis, and what is the exact role of the non-structural viral proteins in virion morphogenesis.

Project

This project follows on our recent results, where we have functionally and structurally characterized the helicase domain from the pestivirus CSFV (pNS3h) (3), as well as the full-length enzyme, containing also the protease domain and the NS4A cofactor (manuscript in preparation). In collaboration with Norbert Tautz (Lübeck, Germany), we are now characterizing the NS2/NS3 interaction interface. For pestiviruses, and in contrast to the related HCV, uncleaved NS2-3 represents an essential factor for virion morphogenesis while free NS3 is an essential component of the viral replicase. Our collaborators recently discovered that pestiviruses can adapt to virion morphogenesis in the absence of uncleaved NS2-3 by just two amino acid exchanges, one in NS2 and the other in NS3 protease (4). Analysis of our structure, indicate that in NS3, the mutation is located in NS3 protease domain within NS3-NS4A interface (data not shown). Together with functional data designed upon our structure, we have preliminary results that suggests that a segment in NS4A domain acts as a dynamic regulator of the NS3-NS4A interaction and could represent a molecular switch that controls RNA replication and virion morphogenesis (data not shown). The student will participate in the characterization of the NS2/NS3 complex, and in its crystallization.

References

1. **Rossi S, Toigo C, Hars J, Pol F, Hamann JL, Depner K, Le Potier MF.** 2011. New insights on the management of wildlife diseases using multi-state recapture models: the case of classical swine fever in wild boar. *PLoS One* **6**:e24257.
2. **Lindenbach BM, CL, Thiel, HJ, Rice, CM.** 2013. Flaviviridae, p. 712-746. *In* Knipe DaH, PM (ed.), *Fields in Virology*, 6th ed. Lippincot Williams & Wilkins, Philadelphia.
3. **Tortorici MA, Duquerroy S, Kwok J, Vonrhein C, Perez J, Lamp B, Bricogne G, Rumenapf T, Vachette P, Rey FA.** 2015. X-ray structure of the pestivirus NS3 helicase and its conformation in solution. *J Virol* **89**:4356-4371.
4. **Klemens O, Dubrau D, Tautz N.** 2015. Characterization of the determinants of NS2-3-independent virion morphogenesis of pestiviruses. *J Virol*.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : LAI, Inserm 1067

Adresse : Campus de Luminy, Marseille

Directeur du laboratoire : Pierre BONGRAND

Équipe de recherche (si pertinent) :

Responsable de l'équipe :

Responsable de stage : Marie-Pierre VALIGNAT

Adresse électronique : marie-pierre.valignat@inserm.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED 352

Profil recherché : Biophysicien

Possibilité de poursuite en thèse : OUI - NON

Si oui, financement envisagé : ANR/ Ecole doctorale

Titre du stage : Competition between haptotaxis and mechanotaxis

Résumé :

During the immunological response, the recruitment of white blood cells from the blood system to inflammatory zones involves a relatively well-known cascade of events: white blood cells are first stopped by adherence on the blood vessel walls, where they spread, polarize and migrate spontaneously. They eventually cross (transmigrate) the vessel walls and migrate in tissues to the site of inflammation.

During intra-luminal migration, white blood cells are submitted to strong mechanical constraints imposed by the hydrodynamic shear flow of the blood flow and we have recently found that WBC migration was very sensitive to shear flow. A striking observation was made with a type of WBC called lymphocytes that orient their direction of migration against the direction of flow [1,2]. This behavior, which has also recently been observed in vivo demonstrates that T-lymphocytes are sensitive to mechanical cues.

It has also been hypothesized that migration allows cells to scan the vessels surface in search for an appropriate location for transmigration and that surface chemokines may guide lymphocyte in this search. However, even if haptotaxis plays a central role in the orchestration of immune cells trafficking, deciphering of the intricate mechanisms involved is difficult in vivo due to the immense number of parameters.

We propose in this internship to combine specific microfluidic devices, protein printing and Wet-SEEC technique [3] to apply combination of flow and chemical gradients in order to establish cell decision against conflicting guiding signals. Such information will be analysed quantitatively in vitro by varying flow rate and gradient properties, and will therefore help deciphering observed behaviours in vivo (where it is difficult to link an observed cell orientation to the multiple external cues). We will for instance shed light on the upstream orientation observed in vivo, which may result from flow guiding but also from a non identified chemical signals on vessels.

[1] Valignat, M.P., O. Theodoly, A. Gucciardi, N. Hogg, and A.C. Lellouch*, T Lymphocytes Orient against the Direction of Fluid Flow during LFA-1-Mediated Migration. *Biophys J*, 2013. 104(2): p. 322-331

[2] Valignat, M.P., P. Negre, S. Cadra, A.C. Lellouch, F. Gallet, S. Henon, O. Theodoly, Lymphocytes can self-steer passively with wind vane uropods. *Nat Commun*, 2014. 5: p. 5213.

[3] Ducret*, A., M.P. Valignat*, F. Mouhamar, T. Mignot, and O. Theodoly, Wet-surface-enhanced ellipsometric contrast microscopy identifies slime as a major adhesion factor during bacterial surface motility. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012. **109**(25): p. 10036-41.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Institut de Chimie des Substances Naturelles

Adresse : 1 avenue de la Terrasse 91190 Gif-sur-Yvette

Directeur du laboratoire : Angela MARINETTI

Équipe de recherche (si pertinent) : Biologie et Chimie Structurales

Responsable de l'équipe : Eric GUITTET

Responsable de stage : Carine VAN HEIJENOORT / Nadine ASSRIR

Adresse électronique : carine.van-heijenoort@cnr.fr (01 69 82 37 94)

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED425 Innovation thérapeutique

Profil recherché : Chimiste, physico-chimiste ou biologiste ayant un intérêt dans la caractérisation physico-chimique, dynamique, structurale et fonctionnelle de protéines dans un contexte de compréhension des mécanismes fondamentaux du cancer.

Possibilité de poursuite en thèse : OUI

Si oui, financement envisagé : Ecole Doctorale et autres (bourses ligue contre le cancer ou ARC en particulier)

Titre du stage : Exploration structurale et fonctionnelle de la partie C-terminale intrinsèquement désordonnée de ErbB2, une cible thérapeutique majeure des cancers du sein.

Résumé :

Contexte – Les récepteurs tyrosine kinase jouent un rôle essentiel dans la transduction de signaux extracellulaires en signaux intracellulaires, permettant à la cellule de s'adapter à son environnement. Il n'est pas surprenant que la surexpression de cette classe de protéines conduise à des dérèglements physiologiques majeurs, en particuliers des tumeurs malignes. ErbB2 se distingue des autres membres de la famille de ces récepteurs (EGFR) par son absence de ligands connus. Dans des conditions physiologiques normales, il forme un hétérodimère avec d'autres ErbB lors de la liaison à leurs ligands. ErbB2 est surexprimé dans environ 25% des cancers du sein. Cette surexpression entraîne l'activation constitutive de voies de signalisation associées à son activité tyrosine kinase. Des études montrent qu'ErbB2 est capable d'induire plusieurs caractéristiques des cellules cancéreuses dont la prolifération, la résistance à l'apoptose et l'augmentation de la mobilité cellulaire. L'objectif du projet, financé par l'ANR (Janv 2014-Juin 2017), est de décrire l'édifice supramoléculaire associé au domaine C-terminal intrinsèquement désordonné d'ErbB2 (CtErbB2, 276aa), sur la base des larges connaissances de l'interactome associé à ce récepteur. Les challenges de ce projet sont d'une part, l'étude d'interactions multiples avec un domaine intrinsèquement désordonné de grande taille (276aa) riche en prolines et conditionnées par plusieurs phosphorylations (5 tyrosines phosphorylées), d'autre part, l'intégration des résultats structuraux dans un contexte cellulaire (projet en partenariat avec Ali Badache, Centre de Cancérologie de Marseille) et thérapeutique (projet en partenariat avec Françoise Guerlesquin, Institut de Microbiologie de la Méditerranée, Marseille).

Actuellement, les conditions d'expression de CtErbB2 en grande quantité compatible avec une étude RMN ont été établies et l'attribution des résonances a été effectuée. L'interaction du domaine avec un domaine SH3 a été effectuée. L'optimisation des conditions de phosphorylation du domaine est en bonne voie.

Travail de recherche – Le stage s'inscrira dans la continuité des études d'interactions qui seront en cours lors de l'arrivée du stagiaire. Trois protéines adaptatrices sont actuellement en cours d'investigation: (i) le domaine PTB (Phosphotyrosine Binding) de Shc reconnaît a priori deux tyrosines phosphorylées de CtErbB2 (pY1201 et pY1227) et joue un rôle dans la promotion de la prolifération et la désorganisation des cellules épithéliales, (ii) la protéine MEMO interagit aussi avec pY1227 et (iii) GrbB2, une protéine modulaire constituée de trois domaines, SH3-SH2-SH3 joue un rôle crucial dans la phosphorylation de ErbB2 et son activation. Nous cherchons à comprendre les mécanismes de reconnaissance spécifiques de ces protéines, afin d'aller vers la mise au point d'inhibiteurs spécifiques de leurs interactions. Le/la stagiaire travaillera sur l'une de ces protéines.

Techniques utilisées – Le travail proposé comporte plusieurs volets, conduisant au développement de plusieurs compétences : (i) production et purification de protéines, (ii) caractérisation biophysique des interactions protéine-protéine (ITC, SPR, DLS, etc.) (iii) études structurales des protéines adaptatrices libres et de leurs interactions avec CtErbB2 par RMN. L'analyse des complexes protéines-protéines pourra aussi conduire à des études par SAXS.

Encadrement – Le(la) stagiaire sera co-encadré(e) par Carine van Heijenoort (coordinatrice du projet) et Nadine Assrir (responsable des aspects biologie du projet). Il bénéficiera de l'appui de plusieurs autres chercheurs de

l'équipe impliqués dans le projet (Ewen Lescop pour les expériences de RMN, Nelly Morellet pour l'analyse des spectres RMN et la reconstruction des structures, François Bontems pour la production éventuelle de protéines en cellules d'insectes et pour la modélisation moléculaire).

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

« PROPOSITION DE STAGE »

Laboratoire : Biologie structurale et biophysique / SDI / LGCR / Sanofi R&D

Adresse : 13, Quai Jules Guesde - BP 14, 94403 Vitry sur Seine Cedex

Directeur du laboratoire : Alexey RAK

Équipe de recherche (si pertinent) :

Responsable de l'équipe : Magali MATHIEU

Responsable de stage : Saskia VILLINGER

Adresse électronique : Saskia.Villinger@sanofi.com

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

Profil recherché : Master student M2 with biophysical / biochemical / physical background, matriculated in any of the three mentioned courses (Interface Physique-Biologie (IPB), Physique de la Matière et Biologie (PMB), Biophysique) and with good english skills (oral and written)

Possibilité de poursuite en thèse : NON

Si oui, financement envisagé :

Titre du stage : Application of novel biophysical techniques for the characterization of therapeutic targets

Résumé :

Application of the novel biophysical techniques « Microscale Thermophoresis » (MST) and nanoDSF for the characterization of small molecule-protein and protein-protein interactions as well as thermal protein stability of medically relevant targets. This position will include planning, implementation and optimization of assays, data analysis and presentation.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire: *Laboratoire d'Optique et Biosciences*

Adresse : *Ecole Polytechnique, 91120 Palaiseau*

Responsable de stage : *Marten VOS*

Email : *marten.vos@polytechnique.edu*

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

Profil recherché: *formation (bio)physique ou physico-chimie avec intérêt pour biophysique moléculaire*

Possibilité de poursuite en thèse : *oui*

Financement envisagé : *bourse ED*

Titre du stage : *Carbon monoxide dynamics in a CO-sensor protein*

Résumé :

Carbon monoxide (CO) is not only a toxic gas, but has in recent years also been recognized as a physiological signaling molecule in eukaryotic and prokaryotic organisms. A small number of specialized proteins has been identified that act as CO sensors¹. In these proteins binding of CO to a heme prosthetic group leads to changes in the activity of an associated enzymatic domain. This project focuses on a bacterial CO sensor protein, RCOM2, which was found to have an extremely high affinity for CO, and, at least *in vitro*, act as a CO trap. To investigate the molecular origin of this highly unusual property that also has potential technological applications, the CO dynamics inside the protein will be studied. The heme-CO bond can be photodissociated, and, making use of the associated heme color change, this property will be used to follow the dynamics of CO-heme bond reformation using ultrafast optical spectroscopy. Combining this approach with site directed mutagenesis to alter the protein composition, as well as the effect of external effector molecules, should give insight in the way the protein prevents CO escape and how this property may be reversed. Tutoring for the spectroscopic aspects as well as for the biochemical aspects is provided. The associated thesis project will also aim at exploiting the properties of this natural protein to develop a CO sensor protein that also functions under aerobic conditions.

1. Liebl U, Lambry, J-C, Vos, MH (2013) *Primary processes in heme-based sensor proteins*. Biochim. Biophys. Acta. 1834, 1684-92.

« PROPOSITION DE STAGE ET DE THÈSE »

Laboratoire : LIPhy (Grenoble)

Adresse : 140 rue de la Physique – 38402 St Martin d'Hères Cedex

Responsable de stage : Irène WANG – tél. 04 76 51 47 29

Email : irene.wang@ujf-grenoble.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : 220 : ELECTRONIQUE, ELECTROTECHNIQUE, AUTOMATIQUE, TRAITEMENT DU SIGNAL (EEATS) – Grenoble INP

Profil recherché : physique / optique

Possibilité de poursuite en thèse : oui

Financement envisagé : bourse école doctorale

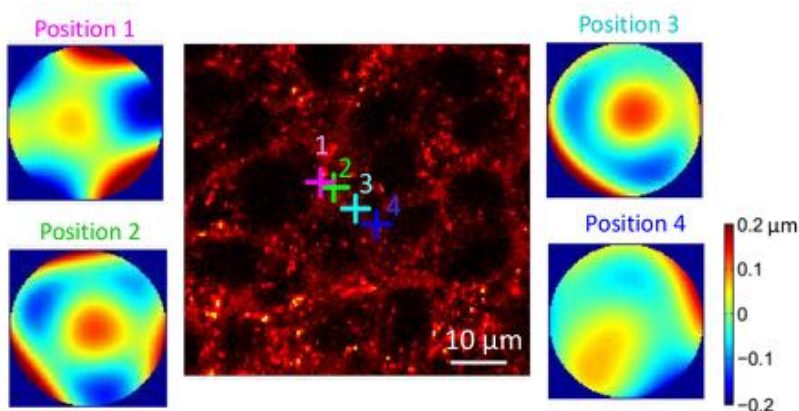
Titre du stage : Adaptive optics for deep tissue microscopy

Résumé :

Adaptive optics has recently aroused much interest in the field of biological microscopy. Indeed, as one tries to look deeper into cells or tissues, aberrations caused by the specimen itself lead to an enlarged Point Spread Function (PSF), and hence a decreased contrast and resolution. Adaptive optics aims at correcting these aberrations by placing an active component in the optical path (typically, a deformable mirror or a liquid crystal modulator) that compensates the wavefront distortion caused by the sample. Therefore the image quality can be preserved at larger depth.

Applying adaptive optics to deep-tissue investigation is still challenging. For instance, in a biological tissue, the optimal wavefront correction can vary significantly within the field of view (see figure), so that a given correction would only be valid in a narrow area. Another limitation when imaging into biological tissues is light scattering, caused by relatively small refractive index inhomogeneities such as cell components and supramolecular structures, which results in drastic signal loss. To some extent, light scattering can be considered as a special case of aberrations with more complex phase variations, in contrast to low-order aberrations which consist in rather smooth phase variations.

At LIPhy, we have implemented adaptive optics in both a confocal and a two-photon microscope. Our optimization strategy consists in measuring the signal fluctuations caused by molecules as they diffuse in and out of the PSF. These fluctuations yield the molecular brightness, which resembles the image of a point emitter in terms of their sensitivity to aberrations. We have shown that this approach enables accurate corrections of low-order aberrations.



Measured wavefronts at four positions (indicated by crosses on the fluorescence image at the center) within a multi-cellular spheroid. Fluorescent molecules were injected in the intercellular space where they can freely diffuse

The ultimate goal of the proposed project is to extend this adaptive optics approach to multicellular spheroids which are models of cancer tumors, studied in our team. Multicellular spheroids are highly aberrating and scattering. Our aim would be to develop methods for aberration correction in such tissues when imaging in depth. The experiments will be performed on home-built confocal and two-photon microscopes equipped with deformable mirrors, on both scattering phantoms and multicellular spheroids.

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THÈSE »

Laboratoire : Laboratoire de Biologie Structurale et Radiobiologie

Adresse : CEA Saclay, Bat 144, Gif-sur-Yvette

Directeur du laboratoire : S Zinn-Justin

Équipe de recherche (si pertinent) : Enveloppe Nucléaire, Télomères et Réparation de l'ADN, <http://www.i2bc.paris-saclay.fr/spip.php?article168>

Responsable de l'équipe : JB Charbonnier, MH Ledu, S Zinn-Justin

Responsable de stage : S ZINN-JUSTIN

Adresse électronique : sophie.zinn@cea.fr

N° et intitulé de l'École Doctorale de rattachement : ED Innovation thérapeutique, Paris Sud

Profil recherché : Connaissance en biochimie/biophysique des protéines, intérêt pour la biologie structurale

Possibilité de poursuite en thèse : OUI -

Si oui, financement envisagé : ANR, école doctorale, fondations

Titre du stage : Impact structural de phosphorylations provoquées par un signal mécanique

Résumé :

Comment les cellules répondent-elles aux exigences mécaniques de leur environnement immédiat ? Les mécanismes responsables de la réponse cellulaire à la rigidité des tissus environnants ou à une force mécanique jouent un rôle particulièrement important dans le développement et la fonctionnalité des muscles. Des mutations dans les gènes des lamines de type A et de l'émerine provoquent des défauts de mécanotransduction et causent la dystrophie musculaire d'Emery-Dreifuss. Dans ce projet, en nous appuyant sur des premiers résultats de l'équipe de S. Zinn-Justin sur la structure des oligomères d'émerine (Herrada et al., ACS Chem Biol., 2015) et sur un nouveau dispositif expérimental développé par l'équipe de C. Coirault (UPMC / Institut de Myologie) pour suivre le devenir des protéines étudiées lors de l'application d'une force (Bertrand et al., J Cell Sci, 2014), nous souhaitons décrire l'impact structural des phosphorylations de l'émerine provoquée par un signal mécanique. L'étudiant utilisera la Résonance Magnétique Nucléaire, la spectroscopie de fluorescence et la Microscopie Electronique pour analyser *in vitro* les conséquences des phosphorylations observées en cellules par l'équipe de l'UPMC sur la structure, l'état oligomérique et les propriétés de liaison de l'émerine native et mutée chez des patients atteints de dystrophie musculaire.

English version: Structural impact of phosphorylations triggered by a mechanical signal

How cells respond to the mechanical demands of their immediate surroundings is becoming a field of intense study. Mechanisms underlying the cell response to tissue stiffness and mechanical forces are crucial for muscle development and functionality. Mutations in A-type lamin and emerin genes impair mechanotransduction and cause Emery-Dreifuss muscular dystrophy. This project is based on recent results of the team of S. Zinn-Justin on the structure of emerin oligomers (Herrada et al., ACS Chem Biol., 2015) and on the new experimental set-up developed by the team of C. Coirault (UPMC / Institute of Myology) to follow the evolution of the proteins of interest during application of a force on a cell. It aims at describing the structural impacts of emerin mechanodependent phosphorylations *in vitro* and

at understanding how disease-causing mutations deregulate these structural events. The student will use Nuclear Magnetic Resonance, fluorescence spectroscopy and Electron Microscopy in order to analyze *in vitro* the consequences of emerin mechanodependent phosphorylations observed in cells by the team of UPMC on the structure, oligomeric state and binding properties of native and mutated emerin, as detected in patients with muscular dystrophy.