**Pr. Catherine Michaux et Pr. Eric Perpète**
**Laboratoire de Chimie Physique des Biomolécules**
**Département de Chimie**
**rue de Bruxelles, 61, B-5000 Namur, Belgique**
**Tel : 0032 81 724557**
**e-mail : catherine.michaux@unamur.be**

# Proposition de stage dans le domaine des biotechnologies et de la biochimie

**Durée : 5-8 mois**

**Lieu : Dans le laboratoire de recherche « Chimie Physique des Biomolécules » à l'Université de Namur (Belgique)**

**Profil recherché : candidat motivé, aimant le travail en équipe, capable de s'adapter et de prendre des initiatives**

**Sujets de recherche : (à discuter avec le tuteur)**

**1) Optimisation d'une méthode de renaturation de protéines pour des applications biotechnologiques**

**2) Production, purification et caractérisation de protéines membranaires pour des applications nanotechnologiques, biologiques ou biomédicales.**

**3) Etude des mécanismes moléculaires régulant les interactions protéine-protéine: une base pour le développement de nouveaux inhibiteurs en thérapie anti-cancéreuse.**

## 1) Optimisation d'une méthode de renaturation de protéines pour des applications biotechnologiques.

La maîtrise du repliement des protéines et la compréhension de ses mécanismes constituent des enjeux cruciaux pour relever les défis biotechnologiques et thérapeutiques contemporains. Le développement de techniques efficaces de renaturation est essential et particulièrement pour les protéines membranaires dont la renaturation reste un défi. Déterminer les conditions appropriées pour la renaturation des protéines relève actuellement du processus empirique souvent improductif, coûteux en temps et ressources puisque celle-ci implique généralement plusieurs étapes d'optimisation pour chaque système étudié.

Dans ce cadre et pour pallier ces lacunes, nous avons envisagé une nouvelle procédure basée sur l'association du détergent SDS et d'un cosolvant de type diol. Au-delà de cette preuve de concept, le projet, focalisé sur les systèmes membranaires, s'inscrit dans un objectif général qui est de comprendre les facteurs impliqués dans le procédé, d'améliorer le rendement de la méthode et d'identifier les conditions particulières de renaturation pour différentes classes de protéines.

Dans un premier temps, les mécanismes sous-jacents à ce protocole de renaturation seront étudiés pour la famille des tonneaux β dans des environnements physico-chimiques spécifiques. Suite à la rationalisation et à l'optimisation du processus, nous serons à même de proposer de nouveaux couples renaturants détergent-solvant qui seront appliqués à ce type de protéines. La méthode sera ensuite appliquée à des protéines membranaires à hélices α, connues pour être moins stables que leurs homologues en tonneaux β et plus difficiles à renaturer.

Ce projet original et innovant ouvre de nombreuses perspectives dans les domaines biotechnologique, médical et industriel.

**Techniques utilisées**: Techniques chromatographiques, Spectroscopie UV/vis, Fluorescence, Diffusion dynamique de la lumière, dichroïsme circulaire, SDS-PAGE.

## 2) Production, purification et caractérisation de protéines membranaires pour des applications nanotechnologiques, biologiques ou biomédicales.

Ce projet s'inscrit dans une thématique multidisciplinaire s'intéressant à la caractérisation de protéines membranaires, macromolécules insérées dans les membranes lipidiques difficiles à obtenir dans leur état natif de par leur nature lipophile.

Dans notre laboratoire, ces protéines sont utilisées pour des applications soit nanotechnologiques (conception de nouveaux biomatériaux), soit biomédicales (conception de médicaments), soit biologiques (étude des mécanismes cellulaires). Nous travaillons notamment sur des porines bactériennes et des canaux ioniques qui permettent le passage de divers solutés du milieu extracellulaire vers la cellule (ou inversement). Nous étudions également une protéine formant des pores au niveau de la membrane mitochondriale et qui est impliquée dans l'apoptose et le cancer.

Afin de considérer la mise en œuvre de ces biomolécules vers des milieux imitant leur membrane naturelle, elles seront d'abord produites en quantité suffisante et purifiées par chromatographie d'affinité.

Puis, leur transférabilité sera évaluée par leur reconstitution au sein de vésicules composées de lipides (liposomes). L'activité et la diffusion relative de différents solutés à travers le canal seront déterminées par diverses techniques.

**Techniques utilisées**: Culture bactérienne in vitro, Purification de proteins par chromatographie, Electrophorèse, Spectroscopies, Diffusion dynamique de la lumière.

## 3) Etude des mécanismes moléculaires régulant l'interaction protéine-protéine: une base pour le développement de nouveaux inhibiteurs en thérapie anti-cancéreuse.

Les interactions protéine-protéine (IPP) sont impliquées dans de nombreux processus cellulaires, ce qui en font des cibles thérapeutiques intéressantes. Cependant, la conception de molécules capables d'inhiber ce type d'interactions reste difficile.

Nous étudions actuellement les propriétés structurales et physico-chimiques de deux types d'IPP:

i) Entre les protéines TFIP11 et EFTUD2, essentielles dans les étapes de désassemblage du splicesome (une machinerie cellulaire assurant l'épissage des ARN pré-messagers en ARN mature) et qui constituerait donc un point d'attaque pertinent pour une thérapie anti-cancéreuse.

ii) Entre les protéines DPF3 et Plk1, impliquées dans la régulation de la division mitotique, essentielle pour la survie des cellules cancéreuses. Concevoir un anti-mitotique par l'inhibition de cet IPP serait une stratégie anti-cancéreuse de choix.

Dans ce projet, après avoir surexprimé en bactérie et purifié les protéines, nous proposons de caractériser les IPPs par diverses approches structurales et biophysiques.

**Techniques utilisées**: Culture bactérienne in vitro, purification de proteins par chromatographie, Electrophorèse, Spectroscopies (fluorescence, dichroïsme circulaire), calorimétrie, diffusion dynamique de la lumière.