

Titre du projet :

Etude structurale et fonctionnelle de la protéine ADGVR1, un récepteur GPCR essentiel pour l'audition et la vision.

Equipe :

Dr Nicolas Wolff
Equipe Signalisation et Interactions Moléculaires
Unité Récepteurs-Canaux (Dr Pierre-Jean Corringer)
Département de Neurosciences
Institut Pasteur, Paris.

Résumé :

Le syndrome de Usher est la maladie génétique la plus répandue affectant les cellules photoréceptrices du système visuel et les cellules ciliées du système auditif. Le syndrome Usher de type 2 est la première cause de cécité-surdité chez l'homme. Cette maladie rare altère un complexe protéique essentiel dans le développement et le fonctionnement des cellules ciliées de la cochlée qui perçoivent les sons. Notamment, plusieurs mutations affectent **le récepteur ADGRV1** couplé aux protéines G (GPCR) qui est essentiel à la fois dans le développement des stéréocils des cellules cochléaires mais aussi dans la signalisation cellulaire. Cependant, la structure et l'activité d'ADGRV1 ne sont pas connues, ainsi que l'impact des mutations identifiées.

Nous proposons dans ce stage de Master 2 de caractériser la protéine ADGRV1 portant différentes mutations faux sens identifiées chez des patients Usher. La structure atomique de la protéine sauvage est en cours de résolution par cryomicroscopie électronique. Les protocoles de production (système cellules d'insecte/Baculovirus) et de purification sont bien établis (1-2 mgs de protéines par litre de culture). Il s'agira dans un premier temps de produire plusieurs protéines ADGRV1 mutées, et de vérifier certaines de leurs propriétés physico-chimiques telles que thermostabilité, repliement global, ... Puis, le projet s'orientera vers l'optimisation de production de grilles de microscopie électronique en vue d'obtenir les meilleures images possibles afin de résoudre la structure atomique d'ADGRV1 mutée. En parallèle, seront menées des expériences fonctionnelles (liaisons à des partenaires, activité GPCR, localisation cellulaire, ...). Ce sujet fait donc appel à des notions de biologie cellulaire, de biochimie et de biophysique pour lesquelles notre équipe a développé une expertise depuis plusieurs années. Notre équipe a par ailleurs accès de façon autonome aux différentes plateformes de l'Institut Pasteur particulièrement bien équipées pour mener à bien le projet, dont celle de cryomicroscopie électronique (Nanoimaging; deux Glacios 200 keV et un Titan Krios 300 keV).

Publications :

- Colcombet-Cazenave B, Cordier F, Zhu Y, Bouvier G, Litsardaki E, Lasserre L, Prevost MS, Raynal B, Caillet-Saguy C, Wolff N. (2022) Deciphering the Molecular Interaction Between the Adhesion G Protein-Coupled Receptor ADGRV1 and its PDZ-Containing Regulator PDZD7. *Front Mol Biosci.* 9:923740.
- Colcombet-Cazenave B, Druart K, Bonnet C, Petit C, Spérandio O, Guglielmini J, Wolff N. (2021) Phylogenetic analysis of Harmonin homology domains. *BMC Bioinformatics.* 22(1):190.
- Zhu Y, Delhommel F, Cordier F, Lüchow S, Mechaly A, Colcombet-Cazenave B, Girault V, Pepermans E, Bahloul A, Gautier C, Brûlé S, Raynal B, Hoos S, Haouz A, Caillet-Saguy C, Ivarsson Y, Wolff N. (2021) Deciphering the Unexpected Binding Capacity of the Third PDZ Domain of Whirlin to Various Cochlear Hair Cell Partners. *J Mol Biol.* 6;432(22):5920-5937.
- Gautier C, Troilo F, Cordier F, Malagrino F, Toto A, Visconti L, Zhu Y, Brunori M, Wolff N, Gianni S. (2020) Hidden kinetic traps in multidomain folding highlight the presence of a misfolded but functionally competent intermediate. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 117(33):19963-19969.