Proposition de stage M2 2023-24

Nom du responsable de stage : François-Xavier Theillet

Ecole Doctorale de Rattachement : Innovation thérapeutique du fondamental à l'appliqué

Nom du Laboratoire : Enveloppe nucléaire, télomères et réparation de l'ADN (Institut de Biologie Intégrative de la Cellule, UMR CNRS/CEA/Paris Sud)

Directeur : Jean-Baptiste Charbonnier

Adresse complète : Bât 144, CEA-Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette

Site web: https://www.i2bc.paris-saclay.fr/nuclear-enveloppe-telomeres-and-dna-repair/

Titre du stage :

Régulation de l'axe oncogène MdmX:p53 par les modifications post-traductionnelles.

The regulation of the MdmX:p53 complex by post-translational modifications.

Résumé du projet:

Un tiers du protéome humain est constitué de protéines dites désordonnées, i.e. sans structure tertiaire stable, qui contiennent 80% des sites de phosphorylation [1]. Ces sites sont le plus souvent voisins et nous avons développé des outils de RMN permettant leur étude ces dernières années [2,3,4].

MdmX, la principale ubiquitine-ligase du suppresseur de tumeur p53, est phosphorylée par CK1 (absence de stress) et DNAPK (dommages de l'ADN) sur ~20 sites de ses régions désordonnées. MdmX et p53 sont très étudiées car très importantes dans l'oncogénèse.

Les études structurales se font habituellement sur des fragments non-phosphorylés, ce qui simplifie la tâche mais réduit la valeur de la caractérisation. Nous avons résolu les problèmes biochimiques (expression/purification/stabilité) et nous travaillons avec les protéines portant leurs phosphorylations natives.

Quel est l'impact de ces phosphorylations sur la conformation de MdmX ? et sur ses interactions avec p53 ? L'étudiant(e) produira/purifiera MdmX et p53 (productions déjà optimisées au laboratoire), analysera leurs phosphorylations, leurs interactions et leurs conformations par RMN, ITC et SAXS.

Ces travaux s'effectuent en collaboration avec des biologistes de l'Univ. de Darmstadt (A. Loewer), pour l'étude de la régulation de Mdm2-MdmX:p53 par Chk2-DNAPK (kinases) et Wip1 (phosphatase).

Les stagiaires seront familiarisé(e)s avec: production recombinante de protéines en bactérie, cellules d'insecte et mammifère, biophysique des interactions (ITC, SPR, SAXS..), biochimie des modifications post-traductionnelles, RMN, cristallographie.

Une poursuite en thèse est envisageable. Le stage s'effectuera au CEA-Saclay, la thèse serait menée au sein de l'Univ. Paris-Cité (Paris-5e, labo CITCOM, FX Theillet y dirigeant la RMN à partir de fin 2024).

Pour candidater, envoyez CV et relevé de notes, svp.

Références de l'équipe sur le sujet

1- Theillet et al. (2014) *Physicochemical properties of cells and their effects on intrinsically disordered proteins.* **Chemical Reviews.** 6661-6714.

2- Theillet et al. (2013) *Site-specific NMR mapping and time-resolved monitoring of S/T phosphorylation*. **Nature Protocols.** 8 :1416-1432.

3- Mylona, Theillet et al. (2016) *Opposing effects of Elk-1 multisite phosphorylation shape its response to ERK activation.* **Science.** 354:233-237.

4- Alik A et al. (2020) *Sensitivity-Enhanced 13C-NMR Spectroscopy for Monitoring Multisite Phosphorylation at Physiological Temperature and pH.* **Angew Chem** 59(26):10411-10415.

5- Borcherds et al. (2014) *Disorder and residual helicity alter p53-Mdm2 binding affinity and signaling in cells.* **Nature Chemical Biology.** 10:1000-1002.