

Proposition de stage

Suivi d'événements de traduction individuels in cellulo

La synthèse des protéines est un processus clé pour tous les organismes vivants. Elle est orchestrée par le ribosome, une macromolécule capable de lire le code génétique porté par l'ARN messager (ARNm), pour le traduire en une chaîne d'acides aminés. Comme ce mécanisme implique de multiples étapes asynchrones, l'observation de la traduction à l'échelle d'un seul ribosome permet d'avoir une vision complète du processus sans le brouiller par des mesures d'ensemble.

Nous avons développé une expérience de microscopie de fluorescence en molécule unique in vitro basée sur un système rapporteur qui fonctionne comme un "chronomètre" de ribosomes eucaryotes [1] et qui permet à la fois de mesurer la vitesse d'initiation et d'élongation sur différentes séquences codantes d'ARNm.

Récemment, quelques équipes dans le monde ont développé des expériences permettant de faire des mesures similaires in cellulo [2]. Elles combinent un système permettant de détecter l'ARNm d'intérêt, et une modification de l'ARNm en question pour repérer la protéine naissante. Ces systèmes ouvrent la voie pour, entre autres, repérer la traduction localisée d'un ARNm donné dans une cellule, et quantifier l'expression de l'ARNm et sa vitesse de traduction.

L'objectif de ce stage est de mettre au point cette technique optique de pointe dans notre laboratoire, et de l'appliquer à un ARNm impliqué dans la transition épithélio-mésenchymateuse (MET). La personne recrutée devra (1) développer un reporteur approprié pour observer par fluorescence la protéine en cours de traduction (2) mettre au point une protéine Cas13 modifiée pour repérer l'ARNm in cellulo et (3) trouver les paramètres pertinents pour l'observation par microscopie de fluorescence de la traduction sur un système optique maison en cours de développement actuellement.

Ce travail sera supervisé par Karen Perronet, physicienne au laboratoire LuMin, à l'ENS Paris-Saclay et Olivier Namy, biologiste à l'I2BC à Gif sur Yvette.

Contact : Karen.perronet@universite-paris-saclay.fr

Olivier.namy@i2bc.paris-saclay.fr

Références :

[1] O. Bugaud, N. Barbier, H. Chommy, N. Fiszman, A. Le Gall, D. Dulin, M. Saguy, N. Westbrook, K. Perronet*, and O. Namy*, Kinetics of CrPV and HCV IRES-mediated eukaryotic translation using single molecule fluorescence microscopy, RNA, 23,1626-1635 (2017)

[2] X. Pichon, M. Lagha, F. Mueller et E. Bertrand. A growing Toolbox to Image Gene Expression in Single Cells : Sensitive Approaches for Demanding Challenges. Molecular Cell, 71, 468 (2018).