

FORMULAIRE STAGE Recherche-M2 BBSG
(période de stage : du 5 janvier 2016 au 3 juillet 2016)

A envoyer au secrétariat du master BBSG :
aurelie.glowacz@univ-amu.fr

Titre du stage : Interaction de la protéine tau avec les microtubules reconstitués *in vitro* et imagée par microscopie de fluorescence de la molécule unique

Laboratoire (intitulé, adresse, site web) : Inserm U911 CRO2, Faculté de Pharmacie, Aix Marseille Université, 27 bd Jean Moulin 13005 Marseille cedex 5 ; Site web : <http://www.cro2-timone.fr/>

Equipe :
Equipe 2 Microenvironnement Redox, Cytosquelette et Progression tumorale

Maître de stage : Dr Gilles Breuzard, Pr Vincent Peyrot

E-mail : gilles.breuzard@univ-amu.fr ; vincent.peyrot@univ-amu.fr

Téléphone : 04.91.83.55.26 (GB) ; 04.91.83.55.05 (VP)

Descriptif du stage : Nous avons récemment caractérisé dans l'espace et dans le temps l'interaction tau-microtubule pour la première fois dans la cellule vivante grâce au développement d'une imagerie confocale couplée aux méthodes FRET et FRAP (Fluorescence Recovery After Photobleaching) (Breuzard et al, J. Cell Sci., 2013). Nous montrons également que l'interaction de tau est influencée par la structure des microtubules, notamment par la liaison de molécules anti-mitotiques comme le taxol ou par des modifications post-traductionnelles de la tubuline comme l'acétylation du résidu lysine 40 de la tubuline- α . Dans notre étude, la distribution ponctiforme de l'interaction de tau le long des microtubules pose plusieurs questions concernant son origine. Une piste de recherche est l'insertion d'îlots de tubuline-GTP (guanosine tri-phosphate) le long du microtubule qui est composé essentiellement de tubulin-GDP (guanosine di-phosphate) (Dimitrov et al, Science, 2008). Ces insertions ponctuelles pourraient alors supporter la liaison avec tau. Nous souhaitons un(e) stagiaire qui aura pour tâche de reconstituer *in vitro* des microtubules et de quantifier l'interaction entre tau (couplée au fluorophore FITC) et les tubuline-GTP (X-fluorophore) assemblées en microtubules. L'ensemble de ces analyses sera mené par la technique FRET couplée à la microscopie TIRF. Le stage proposé permettra à l'étudiant(e) d'aborder plusieurs techniques :

- 1) en microbiologie avec la culture bactérienne (*E. coli*) pour la production de la protéine recombinante tau ;
- 2) en chromatographie (FPLC ou Fast Protein Liquid Chromatography) pour la séparation et la purification des protéines tau et tubuline ;
- 3) en biochimie avec la maîtrise des paramètres physico-chimiques pour la polymérisation de la tubuline en microtubules ;
- 4) en imagerie de fluorescence (par TIRFM ou Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy) et microscopie confocale couplées à la technique FRET (Förster Resonance Energy Transfer) pour les interactions tau-tubuline/microtubule.

L'ensemble de ce travail rentre dans le cadre d'un projet plus vaste s'intéressant à l'implication de cette interaction tau-microtubule dans la progression des glioblastomes (projet SIRIC, Site de Recherche Intégré sur le Cancer).