

« PROPOSITION DE STAGE ET/OU DE THESE »

Laboratoire : Structure et Instabilité des génomes

Adresse : 43 rue Cuvier 75005 Paris

Directeur du laboratoire : Jean-Baptiste BOULÉ

Équipe de recherche (si pertinent) : Structure des acides nucléiques, télomères et évolution (SANTÉ)

Responsable de l'équipe : Jean-François RIOU

Responsables de stage : Carole SAINTOMÉ & Jean CHATAIN

Adresse électronique : jean.chatain@mnhn.fr

N° et intitulé de l'Ecole Doctorale de rattachement : ED 227 « Science de la Nature et de l'Homme : écologie et évolution »

Profil recherché : Biologiste, Biochimiste, Biophysicien

Possibilité de poursuite en thèse : à discuter

Si oui financement envisagé : concours école doctorale 227

Titre du stage : Caractérisation des interactions du complexe POT1-TPZ1 avec l'ADN télomérique, chez *S. pombe*

Résumé :

Les télomères désignent les extrémités des chromosomes linéaires chez les eucaryotes. Ils sont constitués d'ADN associé à des protéines spécifiques des séquences télomériques. L'ADN télomérique est constitué d'une région double brin, dont le « brin G », riche en guanines consécutives, se prolonge du côté 3' en une région simple brin, ce qui lui vaut l'appellation « 3' G-overhang ». Dans la majorité des cellules eucaryotes, la séquence de l'ADN télomérique consiste en un motif répété, arrangé en tandem. Ce motif diffère selon les espèces ; chez l'homme (et plus généralement chez les vertébrés) le motif est l'hexamère TTAGGG. Les guanines consécutives sur le G-overhang peuvent former des structures d'ADN à quatre brins : les quadruplexes de guanines ou G-quadruplexes (G4). Chez l'homme et d'autres organismes, le G-overhang est protégé par la protéine POT1 (*Protection Of Telomeres*), une protéine de liaison à l'ADN simple-brin qui reconnaît spécifiquement les séquences télomériques. POT1 est en général associée à une autre protéine télomérique, TPP1.

Au sein de l'équipe nous avons caractérisé la liaison de POT1 et de POT1/TPP1 humaines avec de longues séquences télomériques structurées en G4 multiples ; nous avons en particulier étudié la directionnalité d'ouverture des G4 multiples et le rôle de TPP1 dans l'interaction du complexe POT1/TPP1 avec l'ADN télomérique.

Le stage s'inscrit dans la continuité de cette étude en s'intéressant aux protéines SpPOT1 et TPZ1 de la levure *S. pombe*, homologues des protéines humaines POT1 et TPP1 respectivement. Au travers d'une démarche évolutive, nous souhaitons déterminer si les caractéristiques du complexe POT1/TPP1, observées chez l'homme, sont conservées au sein des différents eucaryotes. Les objectifs du stage sont de produire et de purifier la protéine SpPOT1 et le complexe SpPOT1/TPZ1, ainsi que de caractériser les interactions de ces protéines avec l'ADN télomérique, par des approches biochimiques et biophysiques, notamment par gel retard (EMSA) et transfert d'énergie de fluorescence (FRET).