

Profil N° (à remplir par VAS)	FINANCEMENT Demandé Acquis X
Fiche Résumé du sujet de thèse 2017 Champs disciplinaire Biologie fondamentale et Bio-informatique	
Titre de la thèse : (1-2 lignes) Rôle des dislocations dans la dynamique d'assemblage des microtubules	
3 mots-clés : (1 ligne) Cytosquelette / Microtubule / Cryo-tomographie électronique	ACRONYME MT-DIS
Unité/équipe encadrante : UMR 6290 Institut de Génétique et Développement de Rennes / Tubulin and Interacting proteins	
Nom du responsable scientifique : Chrétien Denis	Nom du codirecteur le cas échéant : Duchesne Laurence
Contact : denis.chretien@univ-rennes1.fr - 02 23 23 67 64; laurence.duchesne@univ-rennes1.fr - 02 23 23 48 82	
<i>Contexte socioéconomique et scientifique : (10 lignes)</i> Les microtubules sont des fibres constitutives du cytosquelette formées par la polymérisation d'hétérodimères de tubuline (α,β). Ils sont impliqués dans de nombreux processus cellulaires tels que la division, la motilité ou encore la différenciation. Leur importance en fait des cibles de choix pour le développement de nouvelles molécules à visée thérapeutique. La tubuline polymérise sous forme de feuillets courbes qui se redressent progressivement et se referment en tube. Lors de ce processus, les feuillets se referment occasionnellement sur des formes énergétiquement défavorables, entraînant la formation de dislocations dans leur paroi. L'impact de ces dislocations sur leur dynamique d'assemblage et leur rôles potentiels dans le fonctionnement du cytosquelette microtubulaire restent à déterminer.	
<i>Les hypothèses et questions posées (8 lignes)</i> Des microtubules assemblés <i>in vitro</i> ou dans des extraits cellulaires forment spontanément des défauts structuraux (Chrétien et al., 1992). De plus, des expériences récentes de vidéo-microscopie photonique par fluorescence mettent en évidence l'incorporation de tubuline dans la paroi des microtubules <i>in vitro</i> et <i>in cellulo</i> (Aumeier et al., 2016), suggérant également la présence de dislocations locales dans leur paroi. L'objectif de ce projet sera de déterminer l'incidence de ces défauts sur la dynamique d'assemblage des microtubules : quelle est leur cinétique dans des systèmes reconstitués <i>in vitro</i> ? Dépendent-ils des conditions physico-chimiques d'assemblage ? Sont-ils effectivement présents <i>in cellulo</i> et quelles sont leurs conséquences sur la dynamique du cytosquelette microtubulaire ?	
<i>Les grandes étapes de la thèse et démarche (10-12 lignes)</i> L'ensemble de la thèse fera largement appel à la cryo-microscopie électronique et aux reconstructions tridimensionnelles de microtubules par cryo-tomographie électronique. Dans un premier temps, la cinétique d'apparition des défauts sera étudiée dans des systèmes reconstitués <i>in vitro</i>. Les microtubules seront auto-assemblés ou nucléés à partir de centrosomes purifiés. En parallèle, des acquisitions 3D seront effectuées afin d'analyser en détail la structure des dislocations. Dans un second temps, la présence de défauts structuraux sera recherchée dans des microtubules cellulaires. Nous chercherons à savoir si ces dislocations influencent la dynamique d'assemblage et les fonctions des microtubules au sein de la cellule. Ce projet sera effectué dans le cadre d'un financement obtenu auprès de l'ANR pour la période 2017-2020.	
<i>Approches méthodologiques et techniques envisagées (4-6 lignes)</i> Les approches méthodologiques envisagées au cours de cette thèse incluent la purification de la tubuline et des centrosomes, la culture de cellules, la préparation des échantillons pour la cryo-microscopie électronique, l'acquisition de séries inclinées (cryo-tomographie électronique), leur reconstruction en trois-dimensions et le sous-moyennage de cryo-tomogrammes. Le suivi de la dynamique d'assemblage des microtubules sera effectué par microscopie à fluorescence (spinning disk microscopy).	
<i>Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes)</i> Connaissances en biochimie, biologie moléculaire, biologie structurale et/ou bio-informatique (analyse d'images). Bonnes connaissances en anglais requises.	