

Stage proposé par

Nom et adresse du Laboratoire ou de l'Unité :
Laboratoire de Biologie du Développement
Sorbonne Université - Campus Pierre et Marie Curie
7 quai Saint Bernard - 75005 Paris

Téléphone : 01 44 27 21 53

Mail : sylvie.schneider-maunoury@upmc.fr

Site internet :

<http://www.ibps.upmc.fr/fr/Recherche/umr-biologie-developpement>

Directeur du Laboratoire ou de l'Unité :
Sylvie Schneider-Maunoury

Intitulé de l'équipe d'accueil : Biologie de l'Ovocyte

Prénom et NOM du Responsable de l'équipe : Catherine JESSUS

Résumé du thème de recherche de l'équipe :

La formation du gamète femelle est un préluce essentiel au bon développement embryonnaire. La maturation méiotique, dernière étape de l'ovogénèse, assure l'obtention d'un gamète femelle haploïde apte à la fécondation. Dans l'ensemble du règne animal, l'ovocyte est bloqué en prophase de 1^{ère} division méiotique, un arrêt équivalent à un arrêt en phase G2 du cycle cellulaire. Au moment de l'ovulation, l'ovocyte reprend la division méiotique en réponse à un signal hormonal. Notre équipe s'intéresse à la voie de transduction initiée par l'hormone et conduisant à l'activation du MPF (*M-phase promoting factor*), déclencheur universel de l'entrée en phase M (Mitose ou Méiose). Nous utilisons l'ovocyte de Xénope comme modèle expérimental particulièrement approprié pour l'analyse biochimique des mécanismes d'entrée en phase-M. L'étude de la méiose est essentielle pour comprendre les mécanismes de la reproduction sexuée mais également la régulation du cycle cellulaire.

Titre du projet de stage : Etude de l'activation du MPF et de la reprise de la méiose dans l'ovocyte.

Prénom, NOM, téléphone et adresse e-mail du Responsable du stage:

Marika MIOT, 01 44 27 34 66, marika.miot-marinho@upmc.fr

Projet de stage :

Chez le Xénope, au moment de l'ovulation, l'ovocyte bloqué en prophase reprend la méiose en réponse à la progestérone. Bien que largement incomprise, la voie de signalisation induite par la progestérone démarre par l'inhibition de l'activité de la protéine kinase, PKA, conduisant à la déphosphorylation de son substrat, la protéine Arpp19. Une fois déphosphorylée, Arpp19 lance une cascade de réactions qui aboutissent à l'activation du MPF.

Le but de notre projet vise à élucider deux questions majeures concernant le mécanisme d'activation du MPF: (1) le rôle d'Arpp19 au cours de l'évolution : chez les Vertébrés, l'activation du MPF dépend d'une chute de l'activité de PKA. Au contraire, chez certains Invertébrés, la reprise de la méiose nécessite une activation de PKA. En tant que substrat de PKA, Arpp19 pourrait donc intégrer les effets paradoxaux de PKA sur la reprise de la méiose. Pour répondre à cette question, en collaboration avec deux équipes spécialisées dans la méiose chez la souris et un invertébré marin, la méduse *Clytia*, différentes formes mutées ou phosphorylées d'Arpp19 (de xénope, souris ou *Clytia*) seront injectées dans l'ovocyte de xénope et leurs effets sur l'activation du MPF seront analysés.

(2) le double rôle d'Arpp19 dans la reprise de la méiose. En effet, bien que le mécanisme reste encore

inconnu, Arpp19, phosphorylé par PKA, joue un rôle dans le maintien de l'ovocyte en prophase. Cependant, lors de l'induction par la progestérone, Arpp19 est phosphorylé sur un autre site par la kinase Greatwall, et cette phosphorylation est suffisante pour l'activation du MPF et la reprise de la méiose. Afin d'analyser l'interdépendance de ces 2 sites de phosphorylation, des formes tronquées d'Arpp19 contenant soit le site ciblé par PKA soit celui ciblé par Greatwall seront injectées et leurs effets sur la maturation méiotique seront étudiés. Ce projet se situe au carrefour de questions essentielles touchant à la fois la reproduction, le développement embryonnaire et la cancérogenèse.

Techniques mises en œuvre par le stagiaire : PCR, clonage, mutagenèse, expression et purification d'ARNm et protéines recombinantes, séparation ou analyse protéique par chromatographie, micro-injections dans l'ovocyte (ARNm, morpholinos, protéines recombinantes et inhibiteurs chimiques) et suivi de la reprise de la méiose et du profil d'activation du MPF dans les ovocytes micro-injectés et stimulés ou non par la progestérone, essais enzymatiques kinase et phosphatase *in vitro*, électrophorèse et western blots, immunoprécipitations et GST-pull down.

Publications du Responsable de stage au cours des 5 dernières années :

Substrate Discrimination by ClpB and Hsp104

Johnston DM*, **Miot M***, Hoskins JR*, Wickner S, Doyle SM. (*equal contribution)

Front Mol Biosci. 2017

Interplay between E. coli DnaK, ClpB and GrpE during protein disaggregation

Doyle SM, Shastry S, Kravats AN, Shih YH, **Miot M**, Hoskins JR, Stan G, Wickner S.

J Mol Biol. 2015

<p>Autres informations:</p>

Etudiants actuellement en thèse ou en M2 dans l'équipe d'accueil. Pour chaque étudiant indiquez le nom du responsable de thèse, l'année du début de la thèse et l'Ecole Doctorale de rattachement

- Tom Lemonnier, Responsable : Aude Dupré, début Sept 2016, ED Complexe du Vivant

Etudiants ayant préparé ou soutenu leur thèse ou leur M2 dans l'équipe d'accueil au cours des six dernières années. Pour chaque étudiant indiquez le nom du responsable de l'étudiant, l'année du début de la thèse et de fin de la thèse, l'Ecole Doctorale de rattachement et le devenir de l'étudiant.

- Thèse : Enrico Daldello, Aude Dupré/Olivier Haccard, 2011-2015, ED Complexe du Vivant, Postdoc à l'Université de Californie, San Francisco

- M2 : Ambre Hubert, 2015, recherche de poste dans l'industrie privée

Cette proposition de stage s'adresse-t-elle spécifiquement à un étudiant scientifique, médecin ou vétérinaire ou bien est-il ouvert à tous les profils ? tous les profils

Ce sujet peut-il donner lieu à une thèse ? Oui