

FICHE SUJET DE THESE

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	FINANCEMENT : <input checked="" type="checkbox"/> Demandé <input type="checkbox"/> Acquis	Origine du financement :
Titre de la thèse : Ingénierie de l'O-GlcNAcylation de protéines		3 mots-clés : Modification post-traductionnelle, Acides aminés non naturels, Ingénierie des protéines
Unité/équipe encadrante : UFIP UMR CNRS 6286/ Ingénierie Moléculaire et Glycobiologie		
Co-Directeurs de thèse : Cyrille Grandjean et Benjamin Lauzier Co-encadrement : Emilie Camberlein		N° de tél : 0251125732 Mail : cyrille.grandjean@univ-nantes.fr Benjamin.lauzier@univ-nantes.fr emilie.camberlein@univ-nantes.fr
<p><u>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</u> L'O-GlcNAcylation est une modification post-traductionnelle (PTM) réversible, qui consiste en l'addition d'une simple unité de sucre, le β-D-N-acétylglucosamine (GlcNAc), sur un acide aminé (sérine ou thréonine) d'une protéine grâce à l'action d'une enzyme, l'O-GlcNAc-transférase (OGT). Le substrat de l'OGT est l'UDP-GlcNAc, principalement généré dans la cellule par la voie de synthèse des hexosamines. L'enzyme O-GlcNAcase (OGA) permet, d'autre part, de retirer le motif GlcNAc de la protéine modifiée. La modification par l'O-GlcNAc a été décrite pour des milliers de protéines impliquées dans de nombreux processus cellulaires comme l'épigénétique, la transcription, la dégradation des protéines, la transduction du signal ou le métabolisme. L'importance de cette PTM est mise en évidence par le nombre de protéines impliquées dans des pathologies telles que le diabète, le cancer ou les maladies neurodégénératives, qui présentent une altération de leur niveau de GlcNAc dans ces conditions. Une augmentation transitoire et aigüe des niveaux d'O-GlcNAc est aussi associée avec une augmentation de la tolérance au stress dans plusieurs modèles. Cependant il existe peu de données dans la littérature reliant l'impact d'une modification O-GlcNAc à la fonctionnalité réelle d'une protéine donnée à cause d'un manque d'outils moléculaires.</p>		
<p><u>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</u> Les études évaluant le rôle de l'O-GlcNAcylation des protéines consistent généralement en une inhibition chimique d'OGT ou OGA et impactent ainsi le niveau d'O-GlcNAcylation de tous leurs substrats en même temps dans une cellule ou un organisme, ce qui permet seulement de mesurer un effet global de la modification. Cibler l'O-GlcNAcylation de protéines spécifiques permettrait d'éclaircir comment celles-ci sont individuellement impliquées dans les processus cellulaires et des conditions pathologiques. Le but du projet est de mettre en place les outils moléculaires et biochimiques permettant de produire des protéines GlcNAcylées mimant les protéines produites naturellement par une cellule pour permettre de déchiffrer l'impact de la GlcNAcylation sur la fonctionnalité de ces protéines. Pour cela, nous allons utiliser l'expansion du code génétique pour insérer un acide aminé non naturel dans des protéines cibles produites de manière recombinantes et nous testeront ensuite l'impact de la modification sur leur fonctionnalité. Les protéines cibles seront choisies pour leur implication dans le choc septique et dans le cancer car l'O-GlcNAcylation de protéines impliquées dans ces processus intéresse nos deux collaborateurs.</p>		
<p><u>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</u> Les différentes étapes de la thèse seront réalisées dans le laboratoire UFIP et à l'Institut du Thorax à Nantes. La/le doctorant(e) aura pour missions : - de synthétiser chimiquement un acide aminé non naturel. Il s'agit d'une synthèse simple en deux étapes et décrite dans la littérature. (UFIP) - de déterminer les sites d'O-GlcNAcylation pour certaines des cibles protéiques pour lesquelles ils ne sont pas encore connus. (Institut du thorax). Pour plusieurs des cibles protéiques, les sites d'O-GlcNAcylation sont déjà caractérisés. - d'incorporer l'acide aminé non naturel synthétisé précédemment dans plusieurs protéines cibles recombinantes lors de leur production chez <i>Escherichia coli</i>, en utilisant les outils moléculaires déjà développés au laboratoire. (UFIP) - de modifier l'acide aminé non naturel pour y greffer un O-GlcNAc et vérifier cette modification. (UFIP) - de tester <i>in vitro</i> la fonctionnalité des protéines cibles modifiées en évaluant leur capacité d'interaction avec leurs partenaires protéiques, leur capacité à s'agréger ou leur activité catalytique quand il s'agit d'enzymes. (UFIP) - de tester <i>in vivo</i> la fonctionnalité des protéines cibles modifiées en évaluant leur impact sur des cellules dans lesquelles elles auront été transfectées. (Institut du Thorax)</p>		
<p><u>Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) :</u> Master 2 de Biologie avec une spécialisation en Biotechnologies, Biochimie ou Biologie Moléculaire avec l'envie de travailler sur un projet interdisciplinaire. Une expérience en clonage et production de protéines recombinantes sera très appréciée. Un bon niveau d'anglais et une bonne capacité à s'organiser sont essentiels</p>		
<p><u>3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :</u> - Violo T., Dussouy C., Tellier C., Grandjean C., Camberlein E. Homogeneous Glycoconjugate Vaccine Produced by Combined Unnatural Amino Acid Incorporation and Click-Chemistry. <i>J. Vis. Exp.</i>, 2020, e60821, doi: 10.3791/60821 - Ferron M, Cadiet J, Persello A, Prat V, Denis M, Erraud A, Aillierie V, Mevel M, Bigot E, Chatham JC, Gauthier C, Rozec B, Lauzier B. O-GlcNAc stimulation: A new metabolic approach to treat septic shock. <i>Sci Rep.</i> 2019 Dec 10;9(1):18751. doi: 10.1038/s41598-019-55381-7. - André-Miral C, Koné FM, Solleux C, Grandjean C, Dion M, Tran V, Tellier C. <i>De novo design of a trans-β-N-acetylglucosaminidase activity from a GH1 β-glycosidase by mechanism engineering.</i> <i>Glycobiology.</i> 2015, 25:394-402</p>		
<p><u>Collaborations nationales et internationales :</u> Tony Lefebvre : Unité de Glycobiologie structurale et Fonctionnelle UMR-CNRS 8576, Université de Lille</p>		