

Spécialité de Master « Optique, Matière, Plasmas »

Stage de recherche (4 mois minimum, à partir de début mars 2010)

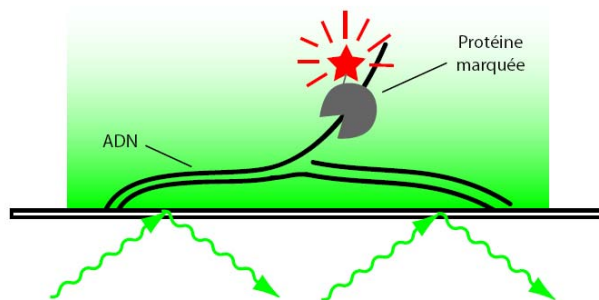
Proposition de stage pour l'année 2009-2010 (ne pas dépasser 1 page)

Date de la proposition : 20/11/2009

Responsable du stage / internship supervisor:	
Nom / name: Bouzigues / Alexandrou	Prénom/ first name : Cédric / Antigoni
Tél : 01 69 33 50 57 / 50 04	Fax : 01 69 33 50 84
Mail: cedric.bouzigues@polytechnique.edu / antigoni.alexandrou@polytechnique.edu	
Nom du Laboratoire / laboratory name: Laboratoire d'Optique et Biosciences, Ecole Polytechnique	
Code d'identification :	Organisme : Ecole Polytechnique
Site Internet / web site: http://www.lob.polytechnique.fr/themes.php?id=9	
Adresse / address: Ecole Polytechnique, 91128 Palaiseau Cedex	
Lieu du stage / internship place: Laboratoire d'Optique et Biosciences, CNRS UMR7645/Inserm U696	

Titre du stage : Imagerie d'enzymes de réparation de l'ADN individuelles par microscopie de fluorescence

Résumé / summary
 La réparation de l'ADN, suite à des erreurs de réplication ou des dommages radiologiques ou chimiques, est essentiel le pour préserver l'intégrité du génome. Ainsi, la protéine NucS (Ren B. et al., EMBO J. 28, 2479 (2009)) est connue pour son rôle dans le clivage de fragments simples brins résultant d'une cassure dans l'ADN double brin, ou « flaps ». Son mécanisme d'action est encore peu connu et l'imagerie de molécule individuelle est une approche puissante pour l'élucider, en rendant possible la visualisation « en action » d'une protéine.
 L'objectif de ce projet est de développer un système expérimental permettant de visualiser l'interaction entre une enzyme de réparation et son substrat. Ceci sera réalisé par une observation en microscopie par onde évanescente d'une enzyme marquée par un fluorophore organique ou par des nanoparticules fluorescentes. Le stagiaire mettra en œuvre le système expérimental permettant la préparation (synthèse d'un fragment d'ADN présentant une extrémité simple brin mimant une cassure physiologique, accrochage à une surface, étirement dans un canal microfluidique) de l'ADN et l'observation par onde évanescente d'enzymes NucS individuelles. Cela lui permettra de déterminer les paramètres essentiels de l'action de l'enzyme : modalité d'accrochage à l'ADN simple ou double brins, processivité, coefficient de diffusion,... Ces mesures seront un point de départ pour une étude des mécanismes de réparation des lésions de l'ADN, impliquant de multiples partenaires protéiques dont la nature des interactions est encore mal connue. Durant ce stage, l'étudiant pourra acquérir des compétences en microscopie (imagerie par onde évanescente), en microfluidique et en biologie moléculaire (préparation du substrat d'ADN, couplage protéine-fluorophore). Ce travail se fera en étroite collaboration avec l'équipe de biologistes de Hannu Myllykallio qui explore l'activité de ces enzymes avec des mesures d'ensemble.
 Ce stage pourra être suivi d'une thèse, qui suivant les résultats obtenus et la sensibilité du stagiaire, s'inscrira dans la continuité du stage ou portera sur les projets d'imagerie de molécules individuelles dans des cellules vivantes développés dans l'équipe.



Ce stage pourra-t-il se prolonger en thèse ? Possibility of a PhD ? : Oui			
Si oui, financement de thèse envisagé/ financial support for the PhD: Ministère, Monge X, DGA, CNRS, ...			
Lasers et matière	oui	Lumière, Matière : Mesures Extrêmes	oui
Optique de la science à la technologie	oui	Physique des plasmas	