

# Spécialité de Master « Optique, Matière, Plasmas »

## Proposition de stage pour l'année 2009-2010

Date de la proposition : 10-2009

<b>Responsable du stage</b>		
Nom	Heslot	Prénom/ François
Tél :	01 4432 2560	Fax : 01 4432 3840
Courriel / mail:	heslot@lpa.ens.fr	
<b>Nom du Laboratoire</b> Laboratoire Pierre Aigrain		
Code d'identification :	UMR 8551	Organisme :ENS, CNRS
Site Internet /	<a href="http://www.lpa.ens.fr/vivolpa/">http://www.lpa.ens.fr/vivolpa/</a>	
Adresse /	24 Rue Lhomond, 75005 Paris	
Lieu du stage /	<i>idem</i>	

### ADN branché et mécanisme de sauvetage: Micromanipulation d'ADN et étude de l'action de l'enzyme BLM.

**Introduction:** Une déficience de la protéine BLM a été identifiée chez l'homme comme étant à l'origine du syndrome de Bloom (instabilité génomique, prédispositions multiples au cancer, infertilité, nanisme, etc...). Il a été montré que cette protéine intervient lors d'étapes de réparation de l'ADN, et on sait grâce à des expériences in-vitro que cette protéine a une affinité particulière pour l'ADN "branché", que ce soit sous la forme d'une structure à 3 brins d'ADN (comme une fourche de réplication), ou une structure à 4 doubles-brins d'ADN (jonction de Holliday).

Des expériences sur des substrats d'ADN de petite taille semblent accréditer l'idée que BLM est capable de défaire partiellement de telles structures, et/ou de les faire migrer, un mécanisme strictement couplé à la consommation d'ATP par BLM.

Dans le fil de cette problématique où on cherche à identifier la nature de l'action enzymatique de BLM, on projette des expériences de micromanipulation et mesure de force pour étudier l'action de cet enzyme sur une structure de fourche de réplication (3 brins), ou encore une jonction de Holliday, l'intérêt de ce genre de manip étant de pouvoir potentiellement obtenir une observation directe de l'action mécanique (par exemple une translocation) associée à l'action enzymatique.

**Projet:** Dans un cadre plus général, il est apparu que des protéines impliquées dans des pathologies humaines graves (Syndrome de Bloom, Syndrome de Werner, syndrome de Rothmund-Thomson par exemple), pouvaient être potentiellement impliquées dans des mécanismes de "recul" de fourche de réplication.

Pour mesurer directement ce type d'action mécanique, on va utiliser un montage de "piège magnétique" qui est opérationnel, et qui utilise une configuration où on ancre une construction moléculaire d'ADN entre une microbille magnétique et une surface solide. Des petits aimants placés au-dessus de l'échantillon permettent d'exercer une force sur la microbille magnétique et donc sur la construction moléculaire. Les mouvements de la bille (la distance bille - surface échantillon) sont mesurés automatiquement par video-microscopie. On peut dès lors suivre directement l'action enzymatique, si celle-ci est couplée à une modification de la conformation de la construction d'ADN.

Pour le projet, la construction moléculaire va être une fourche de réplication arrêtée, dont les deux bras sont attachés entre bille et surface. Des mesures sur le montage de piège magnétique vont pouvoir traduire l'action mécanique de la protéine BLM sur une structure d'ADN de fourche de réplication, notamment si la fourche "recule" (caractérisé par une variation de la distance bille-surface de l'échantillon).

Ces expériences seront réalisées en collaboration avec le groupe de Mounira Amor-Guérét (Institut Curie-Orsay), qui va fournir la protéine purifiée.

**Ce stage pourra-t-il se prolonger en thèse ? Oui : financement de thèse envisagé/ ministère**

Lasers et matière	X	Lumière, Matière : Mesures Extrêmes	X
Optique Sc Tech	X	Physique des plasmas	X