

FRAME : Rôle des modifications d'ARN dans la Fidélité de la tRADuction.
Exemple du décalage de la phase de lecture étudié en Molécule uniqueE

La traduction est l'étape de l'expression génique durant laquelle le code génétique porté par les ARNm est décodé en protéines par le ribosome. Il est essentiel pour le bon fonctionnement cellulaire que le ribosome assure une fidélité de la traduction optimale, c'est-à-dire que la protéine synthétisée corresponde au message génétique. Pour atteindre cet objectif la traduction est le siège de nombreuses régulations. Depuis quelques années les modifications chimiques des ARN (l'épitranscriptome) apparaît comme une voie de régulation majeure de l'efficacité de traduction. Malgré les avancées récentes dans ce domaine, l'effet de ces modifications sur la fidélité dans le décodage du code génétique, et particulièrement le maintien du cadre de lecture demeurent largement sous-explorés. Chez certains virus, tels que le VIH-1 et SARS-Cov2, des structures secondaires d'ARN manipulent le ribosome pour forcer son changement de cadre de lecture, on parle alors de frameshift programmé. Cet événement permet aux virus d'exprimer des protéines essentielles à leur réplication. Si ces frameshifts sont bien décrits d'un point de vue structural, en revanche l'influence des modifications chimiques de ces structures d'ARNm sur le ribosome et son fonctionnement demeure encore inexplorée. En effet, il existe très peu d'approches permettant de mesurer les forces physiques exercées par le ribosome sur ces structures d'ARNm et comment ces forces sont modifiées par les modifications des ARN.

Le projet de thèse proposé a pour objectif de déterminer l'importance des modifications des ARN dans la fidélité de la traduction en utilisant des approches biophysiques.

Il s'organisera autour de deux axes majeurs, à l'échelle de la molécule unique pour prendre en compte l'hétérogénéité des modifications des ARN : 1) adaptation de notre système rapporteur pour mesurer par microscopie de fluorescence la vitesse de traduction en temps réel directement sur des systèmes in vitro dans lesquels les modifications chimiques des ARN sont bien contrôlées ; 2) étude par pince magnétique des forces physiques exercées par le ribosome pour franchir les structures présentes sur tous les ARNm. Nous nous appuierons pour cette deuxième partie de notre collaboration avec David Dulin (Vrije Univ. Amsterdam), avec lequel Karen Perronet partage actuellement un doctorant, pour développer notre propre pince magnétique à LuMIn.

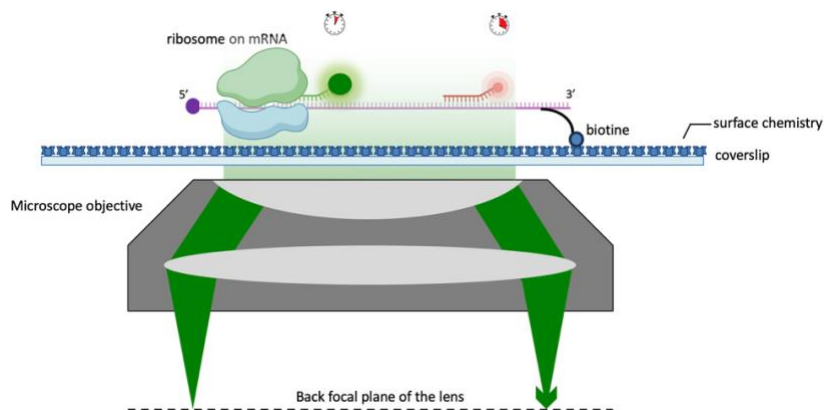


Fig. 1 Principe du système rapporteur pour chronométrer un ribosome en cours de traduction par microscopie de fluorescence (TIRFM).

Le caractère interdisciplinaire du projet

Ces approches nécessitent à la fois les compétences en biologie, mais aussi beaucoup de compétences en physique/optique afin de pouvoir suivre et quantifier les événements de traduction en molécule unique. Ces approches sont donc très fortement interdisciplinaires et n'ont, à l'heure actuelle, jamais été utilisées pour répondre à ces questions.

Contact à LuMIn : karen.perronet@ens-paris-saclay.fr (partie optique)

Contact à l'I2BC : olivier.namy@i2bc.paris-saclay.fr (partie biologie)