

Spécialité : SCIENCES DU VIVANT / Biophysique

[Laboratoire : IRAMIS/NIMBE/LIONS](#)

Étude par diffusion des rayons X de la conformation de la chromatine lors de la réplication de l'ADN

Responsable de stage : GOBEAUX Frederic

frederic.gobeaux@cea.fr

Tel : +33 1 69 08 24 74

Stage pouvant se prolonger en thèse : Oui

Durée du stage : 6 mois

Résumé:

Nous proposons d'étudier les modifications de l'organisation tridimensionnelle de la chromatine au cours du cycle cellulaire. Pour ce faire nous combinerons diffusion des rayons X aux petits angles sur des populations de cellules de levure synchronisées et cytométrie de flux.

Sujet :

L'organisation tridimensionnelle du génome et sa dynamique dans des cellules vivantes sont déterminantes pour ses fonctions. Il est crucial de les comprendre et d'identifier les paramètres qui la contrôlent. L'état de l'art actuel permet d'appréhender l'organisation à courte portée (<10 nm) et à longue portée (>250 nm) de la chromatine dans le noyau. Cependant, il existe une zone intermédiaire (10-250nm) où l'organisation spatiale de la chromatine est mal identifiée. Cette zone correspond précisément à la taille des complexes protéiques qui modifient la chromatine pour permettre la duplication du génome.

Nous proposons dans ce stage d'étudier les relations entre la structure de la chromatine à des échelles entre 1 et 100 nm et la dynamique de réplication de l'ADN. Pour cela, nous utiliserons la diffusion des rayons X aux petits angles pour déterminer la conformation de la chromatine, et la cytométrie en flux pour suivre la duplication du génome. La diffusion sera réalisée directement sur des ensembles de cellules synchronisées dans leur évolution. En utilisant des concepts issus de la physique des polymères nous quantifierons les relations entre la dynamique de la réplication et la structure de la chromatine.

Nous utiliserons comme système modèle la levure de boulanger, *Saccharomyces cerevisiae*. Comme pour toute cellule eucaryote, le cycle cellulaire de la levure comprend trois phases avant sa division : 1) la préparation de l'ADN à la duplication (phase G1), 2) la duplication de l'ADN (phase S) et 3) le contrôle de l'ADN dupliqué et la préparation à la division cellulaire (phase G2). Les cellules de *S. cerevisiae* de type a seront synchronisées à la fin de leur phase G1 grâce à une phéromone sexuelle appelée facteur alpha. En enlevant ce dernier de la solution par lavages successifs, la population de cellules synchronisées à la fin de la phase G1 est relâchée dans la phase S où de manière concomitante nous effectuerons des mesures de diffusion des rayons X aux petits angles et des prélèvements d'échantillons pour analyse par cytométrie de flux.

Le stage sera réalisé entre le Laboratoire Interdisciplinaire sur l'Organisation Nanométrique et Supramoléculaire (Frédéric Gobeaux, Patrick Guenoun) et le Laboratoire Transcription et Génomique (Arach Goldar).

X-ray scattering dynamic study of chromatin conformation during DNA replication

Abstract:

We propose to study the structural modifications of the tridimensional organization of chromatin during cell cycle. For this purpose we will combine small angle x-ray scattering on synchronized yeast cells populations and flow cytometry.

Subject :

The tridimensional organization of the genome and its dynamics in live cells are decisive to perform its functions. It is crucial to understand them and to identify the parameters controlling them. Current state of the art allows describing the short range (<10 nm) and long range (>250 nm) organization of chromatin conformation in the nucleus. However, there is an intermediate range (10-250 nm) where chromatin organization is difficult to apprehend. This range corresponds to the size of proteic complexes that modify chromatin and harness genome replication.

With this internship, we thus propose to study the relationship between chromatin structure between 1 and 100 nm and the DNA replication dynamics. For this purpose, small angle x-ray scattering (SAXS) will be used to monitor chromatin conformation changes correlated with flux cytometry to follow genome replication. Scattering will be directly obtained from populations of synchronized cells. Concepts from polymer physics will be used to quantify the links between replication dynamics and chromatin structure.

Our model system will be yeast cells, *Saccharomyces cerevisiae*. Like for any eukaryotic cells, yeast cellular cycle exhibit three phases before division: 1) DNA duplication preparation (G1 phase) 2) DNA duplication (S phase) and 3) Duplicated DNA control and preparation to division (G2 phase). Type A *S. cerevisiae* cells will be synchronized at the end of their G1 phase using a sexual pheromone called alpha factor. By removing alpha factor through successive washings, the population of cells synchronized at the end of the G1 phase will be released in the S phase. At the same time, SAXS patterns will be collected while samples will be garnered to perform fluorescence activated cell sorting (FACS).

The intership will take place between the Laboratoire Interdisciplinaire sur l'Organisation Nanométrique et Supramoléculaire (Frédéric Gobeaux, Patrick Guenoun) and the Laboratoire Transcription et Génomique (Arach Goldar).
