



Master Biologie Moléculaire et Cellulaire 'BMC',
Université de Paris - UFR Sciences du Vivant

Parcours : **Biologie et Développement Cellulaires 'BDC'**

<http://www.master2bdc.fr/>

Fiche de Projet de Stage M2, Année 2021-2022

Unité INSERM ou CNRS ou Université : INSERM U932 Intitulé Equipe : Vésicules Extracellulaires, Réponses Immunes et Cancer ED d'appartenance : BioSPC Responsable de l'Equipe : Clotilde Théry	Responsable du Stage : Alain Joliot Contacts Adresse : Hôpital 2ème étage 26, rue d'Ulm 75 248 PARIS Cedex 05 Email : alain.joliot@curie.fr Tel : 01 56 24 65 35
--	---

Titre du projet : Hétérogénéité moléculaire et biochimique des vésicules extracellulaires

Les **vésicules extracellulaires** (VEs) sont des vecteurs maintenant incontournables de la communication intercellulaire. La caractérisation précise de leur composition moléculaire et de l'hétérogénéité de ces vésicules sont indispensables pour appréhender leur fonction, tant pour le ciblage des cellules receveuses que pour la nature du signal délivré. Toutes deux sont de plus modulées en fonction du contexte physiopathologique. Notre équipe a mis en évidence par un approche protéomique exhaustive la redistribution de certains marqueurs de VEs après infection par HIV, en particulier la protéine **SERINC3**. Nous avons récemment adapté **la technique de biotinylation de proximité**, où la fusion de l'enzyme APEX2 au marqueur de VE d'intérêt induit après addition de substrats appropriés (biotine-tyramide et H₂O₂) la biotinylation des protéines présentes au sein de la même vésicule, sans pour autant nécessiter d'interaction directe. Nous avons **validé** cette stratégie avec le marqueur spécifique de sous-type de VE **SERINC3**, ou non spécifique (GFP) et généré des lignées stables (Jurkat) exprimant ces protéines de fusion. Le but de ce stage consistera dans un premier temps en **l'analyse protéomique des protéines biotinylées** présentes dans les EVs produites par ces lignées, après optimisation des conditions de préparation et purification des échantillons qui seront traités par la plateforme protéomique de Curie. Ces données, combinées aux résultats déjà acquis, devraient permettre d'identifier les protéines **présentes dans les VEs exprimant SERINC3**. S'appuyant sur l'expertise de notre équipe dans la séparation des différents types de VEs, nous déterminerons si **l'hétérogénéité biochimique ou physico-chimique des VEs** exprimant SERINC3 est corrélée à celle de leur contenu protéique. Enfin, l'analyse combinée de ces mêmes protéines et de SERINC3 devrait permettre d'évaluer la **spécificité de la modulation du contenu des VEs** en réponse à la perturbation pharmacologique ou pathologique de la biogénèse des VEs.

Publications de l'équipe relatives au projet de stage (max 5)

1. Martin-Jaular, L., Nevo, N., Schessner, J. P., Tkach, M., Jouve, M., Dingli, F., Loew, D., Witwer, K. W., Ostrowski, M., Borner, G. H. H., et al. (2021). Unbiased proteomic profiling of host cell extracellular vesicle composition and dynamics upon HIV-1 infection. *EMBO J* 40,.
2. Z Liao*, L Martin-Jaular*, E Soueidi, M Jouve, D C. Muth, T H. Schoyen, T Seale, N J. Haughey, M Ostrowski, C Théry*, K W. Witwer* (2019). Acetylcholinesterase is not a generic marker of extracellular vesicles. *J Extracell Vesicles*, 8: 1628592
3. M Mathieu, L Martin-Jaular, G Lavieue, C Théry. (2019). Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication. *Nature Cell Biol*, 21: 9-17
4. M Tkach, J Kowal, A E. Zucchetti, L Enserink, M Jouve, D Lankar, M Saitakis, L Martin-Jaular, C Théry (2017). Qualitative differences in T cell activation by dendritic cell-derived extracellular vesicle subtypes. *EMBO J*, 36 : 3012-3028
5. Kowal J, Arras G, Colombo M, Jouve M, Morath JP, Primdal-Bengtson B, [...], Tkach M, and Théry C (2016). Proteomic comparison defines novel markers to characterize heterogeneous populations of extracellular vesicle subtypes. *Proc Natl. Acad. Sci USA*. 113: E968-E977.