

# Unité MEDyC "Matrice Extracellulaire et Dynamique Cellulaire"

## UMR CNRS/URCA 7369

### Intitulé du sujet

Mise au point d'une approche par split-ubiquitine pour l'identification des partenaires d'interaction de la neuraminidase-1 (NEU1) membranaire dans les macrophages et caractérisation fonctionnelle de nouvelles interactions.

*Development of the split-ubiquitin approach for the identification of membrane neuraminidase-1 (NEU1) interaction partners in macrophages and functional characterization of new interactions.*

### Champs scientifiques

Biologie cellulaire, biologie moléculaire, biochimie, interactomique

*Cell biology, molecular biology, biochemistry, interactomics*

### Mots clés

Sialidase, partenaires d'interaction, monocytes/macrophages, peptides d'élastine, complexe récepteur de l'élastine, signalisation cellulaire, BRET.

*Sialidase, interaction partners, monocytes/macrophages, elastin peptides, elastin receptor complex, cell signaling, BRET*

### Description

Les sialidases (neuraminidases) constituent une famille d'exoglycosidases qui clivent les résidus d'acide sialique terminaux des glycoprotéines, glycolipides et oligosaccharides. Leur présence affecte les propriétés moléculaires et structurales de ces glycoconjugués, modifiant ainsi leur fonction et leur interaction avec d'autres molécules à l'intérieur de la cellule, entre cellules, et entre les cellules et la matrice extracellulaire. Chez l'homme, la famille des sialidases comportent 4 membres dont la sialidase lysosomale NEU1. Des données récentes de la littérature montrent qu'en plus du lysosome, NEU1 peut être présente à la membrane plasmique de nombreux types cellulaires où elle est impliquée dans la transduction des signaux et dans l'élastogénèse au travers du complexe récepteur de l'élastine (CRE), et dans la régulation et la transactivation de nombreux récepteurs par désialylation. Par ailleurs, les travaux récents de notre équipe ont montré que cette sialidase jouait un rôle majeur dans les effets biologiques médiés par les peptides d'élastine, au travers du CRE, dans de nombreuses pathologies vasculaires telles que le diabète de type 2 (Blaise et al, 2013), l'athérosclérose (Gayral et al, 2014) et la thrombose artérielle (Kawecki et al, 2014). Par conséquent, NEU1 émerge comme un acteur clef de la régulation cellulaire.

En dépit d'un intérêt grandissant de la communauté scientifique pour NEU1, peu de choses sont connus sur le rôle de NEU1 dans les macrophages, acteurs critiques de l'athérosclérose. Cette pathologie vasculaire est à la base de nombreuses maladies cardiovasculaires (MCV) constituant la première cause de mortalité dans le monde et un problème majeur de santé publique. L'incidence des MCV augmente avec le vieillissement croissant de la population et génère des coûts directs et indirects colossaux en France, dans l'Union Européenne et dans la plupart des pays développés. Par conséquent, une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués dans l'athérosclérose est donc requise pour identifier de nouvelles molécules pharmacologiques innovantes, améliorer la qualité de vie de nos concitoyens et réduire les impacts financiers et sociétaux de ces pathologies vasculaires dévastatrices.

Ce projet de thèse de 3 ans qui s'inscrit dans le cadre d'un projet de recherche financé par l'ANR, se propose d'étudier et de décrypter le rôle de la NEU1 membranaire dans les macrophages en lien avec l'athérosclérose selon deux versants originaux. Le versant consacré pour cette thèse résidera dans la mise au point et le développement d'une approche par split-ubiquitine pour l'identification des partenaires d'interaction membranaires de la NEU1 dans les macrophages. Les résultats obtenus viendront

compléter une première liste de candidats potentiels identifiés à l'aide d'une approche protéomique complémentaire. Par ailleurs, une partie importante de la thèse sera consacrée à la validation et la caractérisation fonctionnelle de nouvelles interactions par des techniques classiques de biologie moléculaire et cellulaire, de biochimie, mais également par approche par BRET (Bioluminescence Resonance Energy Transfer) en collaboration avec notre collaboratrice toulousaine. Par conséquent, une partie de la thèse (6 à 10 mois) sera réalisée à Toulouse, le reste se déroulant à Reims.

Les candidat(e)s intéressé(e)s sont invité(e)s à soumettre une lettre de motivation, un CV, une copie du relevé de notes et le nom de deux personnes référentes à : **pascal.maurice@univ-reims.fr**

*Sialidases, or neuraminidases, represent a family of exoglycosidases removing terminal sialic acid residues from glycoproteins, glycolipids and oligosaccharides. Their presence affects the molecular properties and structure of glycoconjugates, modifying their function and interactions with other molecules, inside the cell, between cells and between the cells and the extracellular matrix. Therefore, the sialylation state of glycoproteins and glycolipids has been recognized as a critical factor modulating molecular recognitions inside the cell, between the cells, and between the cells and the extracellular matrix. The human sialidase family contains four members: the lysosomal NEU1, cytosolic NEU2, and membrane-bound NEU3 and NEU4. Recent data from the literature shows that, in addition to lysosomes, NEU1 can be present at the plasma membrane of several cell types. At the plasma membrane, NEU1 is required for signal transduction and elastogenesis through the elastin receptor complex (ERC) but is also involved in the regulation and function of several membrane receptors by desialylation and in receptor transactivation. Recent works from our lab have shown that NEU1 plays a major role in the biological effects mediated by the ERC in several vascular diseases such as type 2 diabetes (Blaise et al, 2013), atherosclerosis (Gayral et al, 2014) and arterial thrombosis (Kawecki et al, 2014). Consequently, NEU1 now emerges not only as a catabolic enzyme but also as a key actor involved in cell signaling regulation.*

*Despite a growing interest of the scientific community to NEU1, little is known about the role of NEU1 in macrophages, critical players of atherosclerosis. Atherosclerosis is at the basis of most of cardiovascular diseases (CVD), the main cause of death in the world, and represents a major problem of public health. Indeed, incidence of CVD is increasing with the growing aging of the population and generates abysmal direct and indirect costs for France, European Union, and all developed countries. Therefore, better understanding of the molecular and cellular mechanisms involved in atherosclerosis is crucial to identify potential targets for new innovative medicines to improve the citizen quality of life and reduce the financial and societal impacts of these diseases.*

*This thesis project of 3 years falls in the framework of a research project funded by ANR and aims at deciphering the role played by membrane NEU1 in macrophages, crucial actors of atherosclerosis. In the first part of the thesis, the PhD student will develop a split-ubiquitin approach in order to identify interaction partners of membrane NEU1 in human macrophages. These results will complement a first list of potential candidates identified by a complementary proteomic approach. The second part of the thesis will be devoted to the validation and functional characterization of new interactions by conventional techniques of molecular and cell biology, biochemistry, and by BRET (Bioluminescence Resonance Energy Transfer) in collaboration with collaborators in Toulouse. Therefore, this thesis will be performed at Toulouse (6-10 months) and Reims.*

*Interested candidates are invited to submit a cover letter, CV, a copy of school transcripts, and contact information for two references to **pascal.maurice@univ-reims.fr***

## **Profil du candidat**

Le(a) candidat(e) retenu(e) devra impérativement présenter des compétences en biologie cellulaire et moléculaire, en biochimie et en culture cellulaire. Une expérience en BRET et/ou toute autre méthode d'étude des interactions protéine-protéine sera nettement appréciée. Il (elle) devra aussi démontrer un intérêt certain pour le travail en collaboration et une capacité à s'adapter aux différentes compétences requises et conditions de travail afin de mener au mieux ce projet de thèse.

*The selected applicant shall have competences in molecular and cell biology, biochemistry and in cell culture. An expertise in BRET and/or other approaches dedicated to the study of protein-protein*

*interaction will be appreciated. He (she) must have a strong interest for working in collaboration and have ability to adapt to the different competences required and to the working conditions to carry out this research project successfully.*