

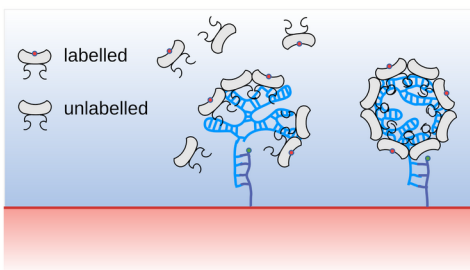
Laboratoire: **Laboratoire de Physique des Solides / Laboratoire Lumière, Matière et Interfaces**
 Responsable du stage: **Guillaume TRESSET / Karen PERRONET**
 e-mail: guillaume.tresset@universite-paris-saclay.fr Téléphone: **01 69 15 53 60**
 Page web: <https://equipes2.lps.u-psud.fr/guillaume-tresset/>
 Adresse: **Bâtiment 510, Université Paris-Saclay / ENS Paris-Saclay**
 Possibilité de poursuivre en thèse: **OUI**
 Financement déjà obtenu pour une thèse: **NON**

Visualiser l'auto-assemblage d'un virus en temps réel

Les virus sont des agents biologiques étonnants constitués de centaines de briques élémentaires assemblées avec une précision atomique. Leur régularité est d'autant plus remarquable que pour beaucoup de virus, elle est obtenue spontanément à travers un processus d'auto-assemblage. La dynamique reste toutefois peu documentée alors qu'une meilleure connaissance de ces phénomènes permettrait de mieux comprendre le cycle de vie des virus et aiderait à concevoir de nouveaux nanovecteurs bioinspirés pour le transfert de gène ou l'administration ciblée de médicaments.

Le projet de stage a pour objectif d'élucider la dynamique à l'équilibre de l'empaquetage du génome dans une capsid virale icosaédrique à l'échelle de la molécule unique. Nous disposons d'un montage optique quasi unique (voir photo) combinant la microscopie de fluorescence à réflexion totale interne (TIRFM) et la microscopie interférométrique à diffusion (iSCAT) permettant de visualiser en temps réel des molécules par fluorescence et des molécules non nécessairement marquées par diffusion de la lumière. Nous sommes en mesure de suivre des événements individuels d'accroche et de décrochage de protéines virales sur des molécules d'ARN greffées à un substrat de verre (voir schéma). Des milliers de virus en cours d'assemblage sont ainsi observés simultanément, et pour chacun d'eux, les traces d'évolution de l'intensité de fluorescence en fonction du temps sont extraites par analyse d'image. Ces traces sont ensuite interprétées avec un algorithme de recherche de marches s'appuyant sur une technique de « machine learning ». Grâce aux milliers de signaux traités par le code, les grandeurs thermodynamiques pertinentes que sont le temps moyen d'accroche et le temps moyen de résidence des protéines sont estimées avec une précision encore inégalée.

Le stage consistera à poursuivre ces investigations conjointement avec un doctorant en dernière année de thèse. Des échantillons biologiques seront préparés puis des mesures par TIRFM/iSCAT seront réalisées à différentes concentrations en protéines virales. Les images seront analysées via d'éventuelles améliorations sur les codes existants pour déduire ensuite les grandeurs thermodynamiques. Idéalement, nous recherchons à estimer l'énergie libre d'interaction en fonction de l'état d'assemblage de la particule virale. Enfin, des expériences d'auto-assemblage en présence d'un agent d'encombrement seront initiées afin de s'approcher des conditions physicochimiques du milieu intracellulaire. Le·a candidat·e aura une formation en physique avec un intérêt pour les systèmes biologiques et la programmation sous Python.



(Gauche) Montage expérimental TIRFM. (Droite) Schéma de principe d'auto-assemblage de protéines virales (en gris) éventuellement marquées sur un ARN viral greffé (en bleu).