

## **Impact des modifications post-traductionnelles de la protéine STIM1 sur son insertion, sa topologie et sa multimérisation à la membrane plasmique.**

INSERM U1227 Lymphocytes B, Autoimmunité et Immunothérapies (LBAI)  
22 avenue Camille Desmoulins, Faculté de Médecine  
29200 Brest, France

### **Contexte**

Stromal Interaction Molecule 1 (STIM1) est une protéine ubiquitaire localisée en condition physiologique à la membrane du réticulum endoplasmique (RE) où elle régule l'influx calcique activé par la libération des réserves calciques contenues dans le RE (Store-Operated Calcium Entry : SOCE). Dans certaines conditions pathologiques, STIM1 est aussi présente à la membrane plasmique (STIM1<sub>PM</sub>) où elle régule d'autres influx calciques, tels que l'influx Arachidonate-Regulated Ca<sup>2+</sup> (ARC) et l'Entrée Constitutive de Calcium (ECC). L'ECC participerait à la dérégulation de la signalisation calcique des lymphocytes B de patients atteints de maladies auto-immunes telles que le lupus ou d'hémopathies telles que la leucémie lymphoïde chronique. STIM1<sub>PM</sub> a été identifiée comme une cible thérapeutique pour le traitement de ces maladies.

### **Problématique et objectifs**

Dans le développement de nos stratégies thérapeutiques ciblant STIM1, il nous est fondamental de pouvoir comprendre les mécanismes responsables de la présence de cette protéine à la membrane plasmiques en conditions pathologiques. En effet, à ce jour, la présence de STIM1 à la membrane plasmique en contexte pathologique n'est pas expliquée. Nous émettons l'hypothèse que les modifications post-traductionnelles de STIM1 telles que la glycosylation ou la phosphorylation influencent le trafic cellulaire et donc la localisation de la protéine. L'objectif de ce stage est de comprendre le rôle de la glycosylation sur l'insertion, la topologie, la multimérisation et l'activité de STIM1<sub>PM</sub>. Des lignées déficientes en enzymes impliquées dans le transfert de glycanes ou déficientes dans la glycosylation et l'homéostasie de l'appareil de Golgi seront transfectées avec des plasmides codant la protéine STIM1 fusionnée ou non à un tag (HiBiT, LargeBit, SmBiT) afin d'étudier son trafic cellulaire et sa localisation à la membrane plasmique par cytométrie en flux et par la technologie de complémentation NanoBiT. L'activité de la protéine STIM1 (SOCE et ECC) sera étudiée par fluorimétrie grâce au système FlexStation.

### **Techniques :**

- Culture cellulaire de lignées
- Transfection
- Mutagenèse dirigée
- Transformation bactérienne, expansion et extraction plasmidique
- Complémentation NanoBiT®
- Cytométrie en flux
- Fluorimétrie (système FlexStation)
- Western Blot
- RT-qPCR

**Mots-clés :** STIM1, signalisation calcique, modifications post-traductionnelles, maladies auto-immunes, glycosylation

**Période du stage :** A partir de janvier 2025, durée : 5-6 mois

**Gratification :** 15% du plafond horaire de la sécurité sociale

**Contacts :** Olivier Mignen [olivier.mignen@univ-brest.fr](mailto:olivier.mignen@univ-brest.fr) (MCF, HDR) ; Maela Hus [maela.hus@etudiant.univ-brest.fr](mailto:maela.hus@etudiant.univ-brest.fr) (PhD student)