

# **Regulation and chemical perturbation of the intracellular transport and function of key proteins involved in inflammation and epithelial-mesenchymal transition**

Thesis supervisor: Franck Perez (franck.perez@curie.fr)

Lab : Institut Curie, Paris  
Unit « Cell Biology and Cancer »  
Team: Dynamics of intracellular organization

Doctoral school: ED515 Complexité du Vivant

Numerous proteins exported to the cell surface, such as receptors, adhesion proteins or cytokines, are key players in the onset of human pathologies. Such proteins enter the secretory pathway in the endoplasmic reticulum. They are then transported to the Golgi apparatus and then to the plasma membrane. The lab of F. Perez has developed the RUSH (Retention Using Selective Hooks) system enabling synchronization of the transport of any protein of interest. This secretory assay allows exploring and exploiting the diversity of the secretory routes. Combined to high-content screening and to powerful chemical approaches, it paves the way to therapeutic applications by the identification of small molecules capable of specific inhibition of the transport of proteins involved in human diseases. Among these diseases, the current project aims to regulate and perturb with chemical compounds the transport and the function of key proteins of inflammation and epithelial-mesenchymal transition, namely TNF and CD44. This research project lies at the interface of biology and chemical biology, gathering the expertise of the labs of Franck Perez and of Raphael Rodriguez.

The first part of the project is downstream of chemical screens performed by the lab of F. Perez. It aims at characterizing and improving the hit molecules that were identified as specific inhibitors of TNF secretion. The effects of these molecules will be validated on the trafficking of TNF using cell biology methods in heterologous and physiological models. Their specificity of action will be assessed on the secretion of other related proteins, namely IL-6 and FasL. The cellular targets of the hit molecules will be identified using Click-chemistry. The generation of structural variants will be performed to identify the active chemical groups. This will lead to the development of improved compounds, having a better IC50 and/or less toxicity.

In a second part of the project, the study of the intracellular trafficking will be applied to a key step of cancer cell transformation studied by the lab of R. Rodriguez. The transport of the glycoprotein CD44 will be analyzed. The project aims to understand the function of CD44 in the epithelial-mesenchymal transition by taking advantage of molecules targeting the cancer stem cells.

# Régulation et perturbation chimique du transport et de la fonction de protéines clés de l'inflammation et de la transition épithélio-mésenchymateuse

Directeur de thèse : Franck Perez (franck.perez@curie.fr)

Laboratoire : Institut Curie, Paris

Unité « Cell Biology and Cancer »

Equipe : Dynamique de l'organisation intracellulaire

Ecole doctorale : ED515 Complexité du Vivant

De nombreuses protéines exportées par les cellules sont déterminantes pour l'étiologie de pathologies humaines. Les protéines entrent dans la voie de sécrétion au niveau du reticulum endoplasmique. Elles sont ensuite transportées vers l'appareil de Golgi puis vers la membrane plasmique. Le laboratoire de F. Perez a développé le système RUSH permettant la synchronisation du transport de n'importe quelle protéine d'intérêt. Cet outil permet d'explorer et d'exploiter la diversité des voies de sécrétion. Allié au criblage cellulaire et à la puissance des approches chimiques, ceci ouvre la voie à des applications thérapeutiques par l'identification de molécules inhibant spécifiquement le transport de protéines impliquées dans des pathologies. Parmi ces pathologies, le projet proposé vise à réguler et perturber chimiquement le transport et la fonction de protéines clés de l'inflammation et de la transition épithélio-mésenchymateuse, à savoir TNF et CD44. Ce projet se situe à l'interface de la biologie et de la chimie-biologie, réunissant les expertises des laboratoires de F. Perez et de R. Rodriguez.

Une première partie de ce projet se place en aval de cribles réalisés par le laboratoire de F. Perez et vise à la caractérisation et à l'optimisation des molécules identifiées comme inhibiteurs de la sécrétion de TNF. Les effets de ces molécules seront validés sur le transport de TNF par des méthodes de biologie cellulaire en modèle hétérologue et physiologique. Leur spécificité sera testée sur la sécrétion d'autres protéines, telles que l'IL-6 et FasL. Les cibles cellulaires de ces molécules seront recherchées grâce à l'utilisation de la Click-chemistry. Les effets des différents groupes actifs composant les molécules seront évalués grâce à la génération de banques de variants structurels. Nous rechercherons ainsi des molécules présentant une meilleure IC50 et/ou une toxicité réduite.

Dans un deuxième axe de ce projet, les méthodes d'étude du trafic intracellulaire seront utilisées pour étudier une étape-clé de la transformation cellulaire étudiée par le laboratoire de R. Rodriguez. Il vise à caractériser le transport de la glyco-protéine CD44 et à comprendre sa fonction dans la transition épithélio-mésenchymateuse, notamment en mettant à profit les molécules ciblant les cellules souches cancéreuses.