



**Master 2 Reproduction et Développement
Stage de recherche 2025-2026**

Prénom et NOM de l'encadrant :

Marika MIOT

Téléphone : 01 44 27 22 96

Mail : marika.miot-marinho@sorbonne-universite.fr

Prénom et NOM du/de la responsable d'équipe : Enrico Maria DALDELLO

Intitulé de l'équipe d'accueil : OOCYTE MEIOSIS GROUP

Site internet de l'unité : <https://www.ibps.sorbonne-universite.fr/fr/Recherche/umr-developpement-adaptation-et-vieillesse/divisions-meiotiques-de-lovocyte>

Prénom et NOM du/de la directeur-riche du Laboratoire ou de l'Unité :
Dominique WEIL

Adresse du Laboratoire ou de l'Unité : IBPS-UMR8263 « DÉVELOPPEMENT, ADAPTATION ET VIEILLESSE (DEV2A) » 9 quai Saint Bernard 75005, Paris

Résumé du thème de recherche de l'équipe d'accueil (une dizaine de lignes maximum) :

La formation du gamète femelle est un prélude essentiel au bon développement embryonnaire. La maturation méiotique, dernière étape de l'ovogénèse, assure l'obtention d'un gamète femelle haploïde apte à la fécondation via la réalisation des deux divisions méiotiques. L'ovocyte bloqué en prophase de 1^{re} division méiotique (équivalent d'une phase G2 du cycle cellulaire), reprend la méiose sous l'effet d'un signal hormonal au moment de l'ovulation. Ce signal hormonal conduit à l'activation de la kinase Cdk1, le facteur universel déclenchant la division cellulaire, qui provoque la première division méiotique. L'ovocyte est un modèle historique de référence pour l'étude des mécanismes qui assurent la transition G2-M du cycle cellulaire. Notre équipe utilise le modèle de l'ovocyte de Xénope pour étudier la voie de signalisation moléculaire initiée par l'hormone (progestérone) et qui conduit à l'activation de Cdk1.

Cette voie, pourtant fondamentale pour la connaissance des mécanismes déterminant la division des cellules, reste encore imparfaitement connue. Son étude permet d'éclairer une étape essentielle de la reproduction sexuée, mais aussi l'origine de pathologies cancéreuses ou d'infertilités féminines. À titre d'exemple, la « déficience méiotique ovocytaire (DMO) » se caractérise par un échec de maturation de l'ovocyte. Les femmes présentant une DMO produisent des ovocytes immatures non fécondables et sont stériles. Comprendre les mécanismes impliqués dans le déclenchement de la maturation méiotique constitue donc un axe de recherche majeur en biologie et en santé.

Titre du projet de stage :

Redéfinition de l'arrêt en prophase I par l'étude de la protéine ARPP19, un acteur de la division méiotique dans l'ovocyte de Xénope

Projet de stage : (une vingtaine de lignes maximum)

Chez tous les vertébrés, le maintien des ovocytes en prophase I est dû à une forte activité de la kinase PKA dont l'un des substrats est ARPP19. ARPP19, phosphorylée par PKA sur la sérine 109 (S109), maintient Cdk1 sous une forme inactive, ce qui contribue à l'arrêt en prophase de l'ovocyte. La progestérone entraîne une chute de l'activité de PKA et la déphosphorylation d'ARPP19 sur S109. Une cascade de signalisation est alors lancée, conduisant à l'activation de Cdk1 et l'entrée en division. Lors de cette étape terminale, ARPP19 est phosphorylée sur la sérine 67 (S67) par la kinase Greatwall. ARPP19 joue alors un nouveau rôle : sa



Master 2 Reproduction et Développement Stage de recherche 2025-2026

phosphorylation sur S67 le convertit en un inhibiteur de la phosphatase antagoniste de Cdk1, PP2A, ce qui permet l'activation de Cdk1. Le modèle fonctionnel d'ARPP19 en vigueur se caractérise par une dissociation temporelle de l'activité des kinases PKA et Greatwall, qui l'assimile à un interrupteur permettant de passer d'une forme phosphorylée d'ARPP19, en S109 par PKA pendant la prophase I, à une autre, en S67 par Greatwall, les deux états étant temporellement dissociés de quelques heures. Le projet du stage vise à comprendre la régulation de ces deux phosphorylations, une clé essentielle pour comprendre le rôle pivot d'ARPP19 dans la prise de décision de la cellule de se diviser ou non. Nos données préliminaires remettent en question le modèle en vigueur en révélant qu'en prophase I, ces deux phosphorylations sont présentes sur ARPP19. Ceci implique que la phosphorylation en S67 soit finement régulée de façon à ne pas activer précocement la maturation de l'ovocyte, ou au contraire à ne jamais la permettre. Le projet explorera l'interdépendance de la phosphorylation de ces deux résidus par la production de protéines ARPP19 mutantes qui seront utilisées dans des tests *in vitro* ou micro-injectées dans les ovocytes de Xénope. Puis, par des approches de déplétion *in vivo* et *in vitro* et de techniques biochimiques de chromatographie, l'interactome des différentes formes d'ARPP19 sera identifié, permettant de définir l'état d'ARPP19 de l'ovocyte en prophase I.

Techniques mises en œuvre par le stagiaire :

(1) Biologie moléculaire : clonage, mutagenèse dirigée, transformation bactérienne. (2) Biochimie : expression et purification d'ARNm et protéines recombinantes, séparation ou analyse protéique par chromatographie, essais enzymatiques kinase et phosphatase *in vitro*, western blots, immunoprécipitations, GST-pull downs. (3) Biologie cellulaire : micro-injections dans l'ovocyte (ARNm, morpholinos, protéines recombinantes et inhibiteurs chimiques), cinétique de la reprise de la méiose des ovocytes de Xénope, techniques de Trim-Away.

Publications du Responsable de stage au cours des 5 dernières années :

1. ARPP19 phosphorylation site evolution and the switch in cAMP control of oocyte maturation in vertebrates. Ferdinand Meneau, Pascal Lapébie, Enrico Maria Daldello, Tran Le, Sandra Chevalier, Evelyn Houlston, Catherine Jessus, Marika Miot. *Development*. 2024 Dec 1;151(23). <https://doi.org/10.1242/dev.202655>
2. Unraveling the Interplay between PKA Inhibition and Cdk1 Activation during Oocyte Meiotic Maturation. Martina Santoni, Ferdian Meneau, Nabil Sekhsoukh, Sandrine Castella, Tran Le, Marika Miot, and Enrico Maria Daldello. *Cell Reports* 43, 113782 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.113782>
3. The M-phase regulatory phosphatase PP2A-B55δ opposes protein kinase A on Arpp19 to initiate meiotic division. Tom Lemonnier*, Enrico Maria Daldello*, Robert Poulhe, Tran Le, Marika Miot, Catherine Jessus, and Aude Dupré. (*Co-first authors) *Nature Communications* 12, 1837 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22124-0>

Autres informations :

Etudiants actuellement en thèse ou en M2 dans l'équipe d'accueil. Pour chaque étudiant indiquez le nom du responsable de thèse, l'année du début de la thèse et l'Ecole Doctorale de rattachement

1. Martina Santoni - Responsables : Enrico Daldello, started in 2022, ED515: Complexité du Vivant (Sorbonne Université).



Master 2 Reproduction et Développement **Stage de recherche 2025-2026**

Etudiants ayant préparé ou soutenu leur thèse ou leur M2 dans l'équipe d'accueil au cours des six dernières années. Pour chaque étudiant indiquez le nom du responsable de l'étudiant, l'année du début de la thèse et de fin de la thèse, l'Ecole Doctorale de rattachement et le devenir de l'étudiant.

1. M2-student – Clément Barbier. Responsable : Marika Miot, stage M2 Jan-June 2024.
M2 “Reproduction et Développement” Université Paris Cité.

2. Ph.D student – Ferdinand Meneau. Responsables : Marika Miot and Catherine Jessus, 2019-2023. ED515 : Complexité du vivant (Sorbonne Université). Post-doctorat at University of Edinburgh (UK).

3. M2-student - Nabil Sekhsoukh. Responsable : Enrico Maria Daldello, stage M2 2021-2022. M2 Biochimie et Biologie Moléculaire, Sorbonne Université. CDD d'ingénieur France.

4. M2-student - David Perdiques. Responsable : Marika Miot, stage M2 2018-2019. M2 Recherche “Reproduction et Développement” Université Paris Cité.

5. Ph.D student - Tom Lemonnier. Responsable : Aude Dupré, 2016-2019. ED Complexité du Vivant (Sorbonne Université). Post-doctorat University of Bristol (UK) then Yale University (USA).

Cette proposition de stage s'adresse-t-elle spécifiquement à un étudiant scientifique, médecin ou vétérinaire ou bien est-il ouvert à tous les profils ?

Ouvert aux étudiants scientifiques

Ce sujet peut-il donner lieu à une thèse ?

OUI