



Master 2 Reproduction et Développement
Stage de recherche 2026-2027

Prénom et NOM de l'encadrant : Christian SPECHT & Luc BOUSSET

Téléphone : 0149595386

Mail : christian.specht@inserm.fr

Prénom et NOM du/de la responsable d'équipe : Marc DHENAIN

Intitulé de l'équipe d'accueil : Neuro-Bicêtre, Inserm U1195, UPSaclay

Site internet de l'unité : https://neuro-bicetre.fr/team1-2026_fr/

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

Adresse du Laboratoire ou de l'Unité :

Neuro-Bicêtre / Inserm U1195 / Université Paris-Saclay, Bâtiment Gregory Pincus,
80, rue du Général Leclerc, 94276 Le Kremlin-Bicêtre

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

L'alpha-synucléine est largement exprimée dans le système nerveux central. Présente au niveau des synapses, elle modulerait la transmission des signaux électriques entre les neurones, mais sa fonction exacte reste inconnue [Specht 2021]. Dans des conditions pathologiques, l'alpha-synucléine subit un mauvais repliement et forme des dépôts intracellulaires appelés neurites et corps de Lewy. Ces formes fibrillaires de l'alpha-synucléine sont toxiques pour les neurones et entraînent à terme la mort cellulaire. Les fibrilles d'alpha-synucléine sont également libérées par les neurones endommagés et se propagent à la manière des prions dans l'ensemble du système nerveux central [Burger et al. 2025]. Ce mécanisme pathologique est commun à plusieurs maladies neurodégénératives connues sous le nom d'alpha-synucléinopathies, notamment la maladie de Parkinson (MP), la maladie à corps de Lewy (MCL) et l'atrophie multisystématisée (MSA).

Titre du projet de stage :

Détection des premières étapes de la pathologie de l'alpha-synucléine à l'aide de nouvelles sondes moléculaires

Projet de stage : (une vingtaine de lignes maximum)

Ce projet abordera deux questions importantes concernant le mécanisme pathologique sous-jacent aux pathologies liées à l'alpha-synucléine. Premièrement, par quelle voie les fibrilles d'alpha-synucléine se transmettent-elles d'un neurone à l'autre ? Deuxièmement, quelles sont les premières conséquences moléculaires de l'agrégation de l'alpha-synucléine sur la structure et la fonction synaptiques ? L'objectif est d'identifier les tout premiers stades de l'internalisation et de l'agrégation de l'alpha-synucléine et d'étudier les processus associés : interaction avec les récepteurs membranaires, déformation membranaire, recrutement de facteurs d'internalisation. Ce projet permettra ainsi de mieux comprendre le mécanisme pathologique des alpha-synucléinopathies.

À ce jour, nous ne disposons pas des outils nécessaires pour aborder ces questions de manière expérimentale, tant en termes de spécificité de marquage que d'imagerie à haute résolution dans les neurones. Dans le cadre de ce projet, nous développerons de nouvelles sondes moléculaires ciblant les formes agrégées de l'alpha-synucléine. Ces sondes



Master 2 Reproduction et Développement Stage de recherche 2026-2027

s'appuieront sur des anticorps connus spécifiques à la conformation et à la phosphorylation de l'alpha-synucléine, qui seront optimisés par conception rationnelle afin d'améliorer leur spécificité, leur taille et leurs propriétés optiques [Doshi et al. 2014]. L'objectif est de produire des nanobodies présentant une sélectivité élevée pour les formes fibrillaires de l'alpha-synucléine. Lorsqu'ils seront exprimés dans les neurones, ces nanobodies (ou intrabodies) seront recrutés vers les agrégats d'alpha-synucléine et les sites d'entrée des formes protéopathiques de l'alpha-synucléine.

Techniques mises en œuvre par le stagiaire :

Les expériences réalisées dans les cellules feront appel à la microscopie de localisation de molécules uniques (SMLM), une technique d'imagerie super-résolutive reposant sur la détection de protéines fluorescentes individuelles avec une résolution de l'ordre du nanomètre [Arizono et al. 2023]. La SMLM permet de localiser, de compter et de suivre les mouvements de molécules individuelles dans des cellules vivantes avec une précision qui dépasse la limite de diffraction de la lumière. Pour l'analyse ultrastructurale des sites d'entrée et de la formation précoce d'agrégats, nous développerons davantage la microscopie corrélative optique et électronique (CLEM, [Maynard et al. 2021]). Ensemble, ces différents axes de recherche permettront de mettre en lumière les premières étapes par lesquelles les formes agrégées d'alpha-synucléine sont transmises entre les neurones, ainsi que les effets en aval sur la dynamique de l'alpha-synucléine dans les neurones affectés.

Plan de travail et méthodologie

Tâche 1 : Production de nanobodies recombinants dirigés contre l'alpha-synucléine mal repliée ainsi que contre des fibrilles amyloïdes marquées par fluorescence : bio-informatique, clonage moléculaire (mutagenèse, fusion avec des protéines fluorescentes, etc.).

Tâche 2 : Caractérisation in vitro et dans les neurones des sondes nanométriques : microscopie électronique à transmission (TEM) et marquage immunogold, expression virale dans des neurones en culture, marquage par fluorescence.

Tâche 3 : Analyse biophysique et ultrastructurale dans des neurones en culture : induction de l'agrégation avec des fibrilles amyloïdes et suivi par microscopie de localisation de molécules uniques (SMLM), congélation à haute pression et microscopie corrélative optique et électronique (CLEM) afin de caractériser la topologie et l'organisation des agrégats précoces d'alpha-synucléine au niveau moléculaire.

Résultats attendus

Grâce à la haute précision spatiale et à la sensibilité exceptionnelle de la microscopie de localisation de molécules uniques (SMLM), associée à la microscopie électronique (CLEM), ce projet permettra de visualiser les sites d'internalisation des formes fibrillaires de l'alpha-synucléine et d'identifier les événements initiaux de l'agrégation de l'alpha-synucléine endogène dans les neurones. Cela est possible par le développement de sondes hautement spécifiques ciblant les nanoagrégats d'alpha-synucléine. Notre projet apportera ainsi de nouvelles informations sur les mécanismes moléculaires et cellulaires sous-jacents aux maladies neurodégénératives [Burger et al. 2025].



Master 2 Reproduction et Développement Stage de recherche 2026-2027

Bibliographie

- Arizono M, Idziak A, Quici F, Nägerl UV (2023). Getting sharper: the brain under the spotlight of super-resolution microscopy. *Trends Cell Biol*; 33(2):148-161.
- Burger D, Kashyrina M, van den Heuvel L, de La Seiglière H, Lewis AJ, De Nuccio F, Mohammed I, Verchère J, Feuillie C, Berbon M, Arotcarena ML, Retailleau A, Bezard E, Canron MH, Meissner WG, Loquet A, **Bousset L**, Poujol C, Nilsson KPR, Laferrière F, Baron T, Lofrumento DD, De Giorgi F, Stahlberg H, Ichas F (2025). Synthetic α -synuclein fibrils replicate in mice causing MSA-like pathology. *Nature*; 648(8093):409-417.
- Doshi R, Chen BR, Vibat CR, Huang N, Lee CW, Chang G (2014). In vitro nanobody discovery for integral membrane protein targets. *Sci Rep*; 4:6760.
- Maynard SA, Rostaing P, Schaefer N, Gemin O, Candat A, Dumoulin A, Villmann C, Triller A, **Specht CG** (2021). Identification of a stereotypic molecular arrangement of endogenous glycine receptors at spinal cord synapses. *eLife*; 10:e74441.
- Specht CG** (2021). A Quantitative Perspective of Alpha-Synuclein Dynamics - Why Numbers Matter. *Front Synaptic Neurosci*; 13:753462.

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

- Camuso S, Vella Y, Youjil Abadi S, Mille C, Brône B, Specht CG* (2026). Single molecule counting detects low-copy glycine receptors in hippocampal and striatal synapses. *eLife* 14:RP109447.
- Ortiz-López D, Hove TT, Huhn C, Camuso S, van gen Hassend PM, Sander B, Campbell BFN, Tyagarajan SK, Plückthun A, Specht CG, Maric HM, Böttcher B, Schindelin H (2026). Cryo-EM structures of higher order gephyrin oligomers reveal principles of inhibitory postsynaptic scaffold organization. *Nat Commun* 17:3541.
- Huhn C, Mille C, Ho SY, Lützenkirchen F, Khayenko V, Hein M, Werner C, Kneussel M, Hell JW, Specht CG, Maric HM (2026). Redox-activated probes enable high-contrast live imaging of native postsynaptic scaffolds. *Angew Chem Int Ed Engl* 65:e19933.
- Kostrz D, Maynard SA, Camuso S, Schulte C, Laurent F, Masson JB, Maric HM, Gosse C, Triller A, Strick TR*, Specht CG* (2025). Competition between glycine and GABAA receptors for gephyrin controls their equilibrium populations at inhibitory synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 122:e2500226122.
- Wiessler AL, Hasenmüller AS, Fuhl I, Mille C, Cortes Campo O, Reinhard N, Schenk J, Heinze KG, Schaefer N, Specht CG*, Villmann C* (2024). Role of the glycine receptor β subunit in synaptic localization and pathogenicity in severe startle disease. *J Neurosci* 44:e0837232023.
- Cabriel C, Monfort T, Specht CG, Izeddin I (2023). Event-based vision sensor for fast and dense single-molecule localization microscopy. *Nat Photon* 17:1105–1113.
- Verdier H*, Laurent F, Cassé A, Vestergaard CL, Specht CG*, Masson JB* (2023). Simulation-based inference for non-parametric statistical comparison of biomolecule dynamics. *PLoS Comput Biol* 19:e1010088.
- Khayenko V, Schulte C, Reis SL, Avraham O, Schietroma C, Worschech R, Nordblom NF, Kachler S, Villmann C, Heinze KG, Schlosser A, Schueler-Furman O, Tovote P, Specht CG*, Maric HM* (2022). A versatile synthetic affinity probe reveals inhibitory synapse ultrastructure and brain connectivity. *Angew Chem* 61:e202202078.
- Maynard SA, Rostaing P, Schaefer N, Gemin O, Candat A, Dumoulin A, Villmann C, Triller A*, Specht CG* (2021). Identification of a stereotypic molecular arrangement of endogenous glycine receptors at spinal cord synapses. *eLife* 10:e74441.
- Yang X, Le Corrionc H, Legendre P, Triller A*, Specht CG* (2021). Differential regulation of glycinergic and GABAergic nanocolumns at mixed inhibitory synapses. *EMBO Rep* 22:e52154.
- Specht CG* (2021). A quantitative perspective of alpha-synuclein dynamics – why numbers matter. *Front Synaptic Neurosci* 13:753462, <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2021.753462>



Master 2 Reproduction et Développement
Stage de recherche 2026-2027

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

Nom	Date début	Date de fin	Ecole doctorale	Financement
AUDAP Lorie	01/12/2026	fin 2028	BIOSIGNE	ANR
BU Yakun	01/01/2026	fin 2028	BIOSIGNE	IRME
CHEN Kerry	01/10/2026	fin 2028	BIOSIGNE	COFUND
DUPUIS Léo	01/11/2022	2026	BIOSIGNE	ANR
GARCIA Lolie	01/11/2023	2026	BIOSIGNE	MESR
GULSEREN Dalya	01/03/2025	début 2028	BIOSIGNE	Fond Vaincre Alz
HEINTZ Alexandra	01/01/2025	fin 2027	BIOSIGNE	Fond Rech Alz
KRIAA Victor	01/10/2025	fin 2028	BIOSIGNE	MESR

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.

Thèses encadrés par le responsable du stage de M2 (Christian SPECHT):

Nom	Durée	ED	Devenir
SALVATICO Charlotte	2011-2015	ED3C	Postdoc
PATRIZIO Angela	2012-2016	ED3C	Industrie
YANG Xiaojuan	2015-2019	ED3C	Postdoc
FREZEL Noémie	2015-2019	ED3C	Postdoc
JAN Audric	2017-2020	ED-PIF	Ingénieur de recherche
LIU Christine	2018-2022	ED3C	Research scientist (Biogen)

Pour les thèses récemment soutenu au sein de notre unité, voir: https://neuro-bicetre.fr/les_theses/

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 à tous le profils.

Ce sujet peut-il donner lieu à une thèse ?

La poursuite d'une thèse est fortement encouragée.