

Corinne Deniaud
CNRS/Université UJF, UMR-5075
Institut de Biologie Structurale
71 avenue des Martyrs
F-38044 Grenoble – France
Tel : 0457428541
Fax : 0438785494
corinne.deniaud@ibs.fr



**Sujet de stage de M2 avec Corinne Deniaud.
Groupe Membrane et Pathogènes (*C. Breyton and F. Fieschi*), IBS.
Collaboration : V. Nivière, LCBM-CEA Grenoble.**

Titre du sujet :

Un nouveau système enzymatique impliqué dans la résistance au stress chloré : un mécanisme de résistance pour les pathogènes intracellulaires ?

Objectifs recherchés : Produire, purifier et caractériser les protéines d'un nouveau système enzymatique impliqué dans la résistance bactérienne à l'eau de javel (HOCl).

Résumé : Les espèces réactives du chlore (et notamment l'acide hypochloreux, HOCl) sont extrêmement toxiques pour les bactéries. En oxydant les méthionines de leurs protéines elles entraînent une perte de structure et de fonction létale pour le pathogène. Un nouveau système enzymatique présentant une activité méthionine sulfoxyde réductase (Msr) impliquant une protéine membranaire (MsrQ) et une protéine périplasmique (MsrP) codées par un même opéron a récemment été identifié chez certaines bactéries. Ce système permettrait de résister à des doses modérées d'HOCl en réduisant les méthionines altérées et restaurant l'intégrité des protéines périplasmiques.

De plus, il a été montré que certaines bactéries pathogènes intracellulaires telles que *Brucella*, dont le cycle infectieux passe par une colonisation des macrophages où la concentration en HOCl est importante, présente une duplication de l'opéron dans leur génome. Ce second opéron, localisé dans des îlots de pathogénicité comprend également une petite protéine périplasmique accessoire riche en méthionine. Nous supposons que celle-ci soit capable de piéger l'HOCl fortement concentré dans les phagosomes des macrophages et serait régénérée par le système MsrP-MsrQ. Ceci permettrait de protéger les protéines du pathogène et de permettre sa survie dans les macrophages.

Dans notre laboratoire nous avons entre les mains les protéines MsrP/MsrQ ainsi que Mrpx. Nous souhaitons exprimer sous forme d'opéron les protéines du deuxième opéron (MsrP2/MsrQ2) afin de procéder à une caractérisation moléculaire et fonctionnelle de ses 2 systèmes et d'en démontrer le rôle dans la virulence. Le but à long terme serait de mettre au point des inhibiteurs de ces protéines et donc d'identifier de nouveaux antibiotiques.

Approches & matériel utilisés :

Expression recombinante en système bactérien. Purification des protéines d'intérêt sur système FPLC. Caractérisation des protéines obtenues (test d'activité, caractérisation d'interaction moléculaire, caractérisation spectroscopique des centres métalliques, cristallisation).

Mots clés : protéine membranaire, stress oxydant, centres métalliques, transfert d'électrons.