

Master Ingénierie pour la Santé (IS)

Spécialité (Master 2) : Chimie Médicinale et Innovation Pharmacologique (CHIP)

*Proposition de stage Janvier 2018 – Juin 2018
(6 mois temps plein)*

CONTACT (Responsable de stage): Dr. GUILLAUME TETREAU

HDR : oui non

Email: guillaume.tetreau@ibs.fr

LABORATOIRE/EQUIPE D'ACCUEIL: Institut de Biologie Structurale (IBS)

Adresse : CAMPUS EPN Bâtiment 92 IBS ; 71, Avenue des Martyrs CS 10090
38044 Grenoble Cedex 9

Caractérisation des pompes à efflux impliquées dans la résistance aux antibiotiques chez *Providencia stuartii*

DESCRIPTIF (quelques lignes mentionnant les techniques utilisées)

Les pompes à efflux sont des complexes protéiques transmembranaires qui permettent le transport de molécules toxiques (métabolites et/ou antibiotiques) depuis le cytoplasme vers le milieu extérieur. Chez les bactéries Gram-négatives, qui possèdent deux membranes (interne et externe), les pompes à efflux de type RNP sont constituées par l'assemblage de trois sous-unités. La première est ancrée dans la membrane interne (AcrB), la seconde est présente dans la membrane externe (ToIC), et la troisième est périplasmique (AcrA) et sert la jonction entre les deux premières. Dans le génome de *P. stuartii*, plusieurs gènes codent pour des versions différentes de chaque sous-unité (4, 5 et 2 gènes pour AcrA, AcrB et ToIC, respectivement), suggérant que de multiples assemblages tripartites puissent se former, qui seraient plus ou moins efficaces selon le métabolite ou l'antibiotique concerné. Les mécanismes d'assemblage de ces systèmes tripartites restent largement méconnus, et plusieurs questions sont ouvertes.

Les versions de pompes tripartites assemblées dépendent-elles des familles d'antibiotiques auxquelles les bactéries sont exposées ? Des hétéro-multimères existent-ils ?

Dans le cadre de son stage, l'étudiant sera amené à (en fonction du candidat) :

- **Déterminer les MIC** (minimum inhibitory concentrations) en milieu liquide et solide de *P. stuartii* à différents antibiotiques. Cela permettra de déterminer la résistance de cette bactérie à une large gamme d'antibiotiques et de connaître les doses auxquelles les exposer pour étudier les pompes à efflux.
- Exposition des bactéries aux antibiotiques à la MIC. **Extraction d'ARN** et mesure de l'expression des pompes à efflux par **PCR quantitative**. Analyse des données et détermination des meilleurs candidats pour chaque sous-unité.
- **Production de sous-unités** de pompes à efflux (1 AcrA, 1 AcrB, 1 ToIC) exprimées dans *E. coli* et purification. Les protéines seront ensuite **crystallisées** dans le but de **résoudre leur structure** au Synchrotron de Grenoble.