

Master Ingénierie pour la Santé (IS)

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

*Proposition de stage Janvier 2019 – Juin 2019
(6 mois temps plein)*

CONTACT (Responsable de stage): Dr. GUILLAUME TETREAU

HDR : oui non

Email: guillaume.tetreau@ibs.fr / guillaume.tetreau@gmail.com

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 RND 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 ?

Nous avons déjà identifié plusieurs gènes candidats dont l'expression a été testée en réponse à plusieurs antibiotiques. Il est maintenant nécessaire d'aller plus loin dans la caractérisation de la relation structure-fonction.

Dans le cadre de son stage, l'étudiant sera amené à (en fonction du candidat, le sujet peut être plutôt coloré « cristallographie » ou « biologie moléculaire ») :

- Produire les sous-unités candidates dans *E. coli* en vue de les cristalliser pour résoudre leur structure au synchrotron.
- Générer des souches knock-out (KO) de *P. stuartii* pour chacun des gènes candidats sélectionnés pour évaluer leur rôle dans la capacité de réponse aux antibiotiques (PCR quantitative, tests de survie, etc.) ainsi que sur leur phénotype (formation des biofilms, masse produite, croissance, etc.).