



Proposition de stage de Master 2 :

Etude des régulateurs transcriptionnels contrôlant la production de kinamycines chez la bactérie *Streptomyces ambofaciens*

Laboratoire d'accueil : UMR1128 DynAMic INRA-Université de Lorraine, Faculté des Sciences, Bd des Aiguillettes BP70239 54506 Vandœuvre-lès-Nancy cedex.

Equipe d'accueil : *Streptomyces* et adaptation (StrAda), responsable Pierre Leblond

Encadrement : Bertrand Aigle, bertrand.aigle@univ-lorraine.fr, tél : 03 72 74 51 41

Contexte

Les bactéries du genre *Streptomyces* sont particulièrement prolifiques pour la synthèse de métabolites spécialisés (ou métabolites secondaires) dont beaucoup trouvent des applications en médecine humaine et vétérinaire (antibactériens, antifongiques, anticancéreux...). La production de ces métabolites est un phénomène très complexe et très contrôlé qui se joue à différents niveaux, allant d'un niveau global (stimuli environnementaux, source de nutriments, stress ... impliquant au niveau de la cellule des régulateurs pléiotropes) à un niveau spécifique (qui implique notamment des régulateurs transcriptionnels dits voie-spécifique).

Comprendre ces mécanismes de régulation des antibiotiques au niveau moléculaire est une étape essentielle afin d'améliorer leur production voire d'activer l'expression de voies de biosynthèse « silencieuses » en condition de laboratoire. Cela doit également permettre d'appréhender comment, dans leur environnement, les bactéries productrices répondent à différents stimuli biotiques (notion de dialogue moléculaire) et abiotiques et déclenchent la biosynthèse de ces métabolites spécialisés et au-delà quel peut être le rôle biologique de ces composés.

Objectifs

L'un des modèles d'étude au laboratoire est *Streptomyces ambofaciens*. Cette bactérie produit plusieurs antibiotiques dont les kinamycines. La synthèse de cette famille de molécules est sous la dépendance d'une cascade complexe de régulation impliquant notamment AlpW. Cette protéine agit comme un régulateur tardif dont le rôle est de stopper la synthèse de kinamycine après la phase de production. Il est suspecté que AlpW serait régulée par un ligand qui pourrait être la kinamycine elle-même ou un intermédiaire de la voie de biosynthèse de l'antibiotique suggérant un mécanisme de régulation de type « feedback » de la production des kinamycines.

L'objectif consistant de ce stage sera de mettre en évidence cette interaction, d'identifier la nature du ligand potentiel de protéine AlpW et de déterminer les caractéristiques de cette interaction en utilisant notamment la technologie switchSENSE qui permet une mesure dynamique en temps réel de différents types d'interactions incluant les interactions protéines - ligands.

Il s'agit donc d'approfondir nos connaissances sur le mécanisme de régulation de la biosynthèse des kinamycines qui implique au moins 5 gènes codant des régulateurs transcriptionnels spécifiques dont les produits forment une cascade de régulation particulièrement complexe.

Approche

Microbiologie, PCR, clonage, expression hétérologue et purification de protéines, étude d'interaction avec la technologie Switchsense, extraction organique de ligands.

Contact

Les candidats devront transmettre leur CV à Bertrand Aigle (bertrand.aigle@univ-lorraine.fr). Les candidats seront sélectionnés pour un entretien au cours duquel ils devront montrer leur motivation pour le sujet proposé.