



Institut de Recherches en Technologies et
Sciences pour le Vivant

Soutenance de thèse

Mardi 20 décembre 2011

À 14 h 00 - Salle de séminaires de l'IBS, Grenoble

Par **Julien Vérove** – iRTSV/BCI

Études de la susceptibilité des cellules eucaryotes à l'injection de toxines par le système de sécrétion de type 3 de *Pseudomonas aeruginosa*

La pathogénicité de *P. aeruginosa* (*P. a*) repose sur de nombreux facteurs de virulence dont le système de sécrétion de type III (SST3). Ce complexe multiprotéique est constitué d'une aiguille se terminant par un translocon composé des protéines PopB et PopD. En s'insérant dans les membranes plasmiques, le translocon permet le passage des exotoxines dans le cytoplasme de la cellule cible. L'induction de la synthèse et de la sécrétion des exotoxines est dépendante d'un contact entre *P. a* et la cellule cible. Dans ce travail, nous avons examiné l'influence de facteurs cellulaires sur l'efficacité de translocation des toxines. L'utilisation d'un système rapporteur fluorescent CCF2/β-lactamase a permis de visualiser l'injection de toxine. En parallèle, l'association des protéines du translocon avec la membrane de la cellule hôte a été évaluée par immunodétection de PopB/D après fractionnement des membranes sur gradient de sucrose. Les cellules promyélocytaire HL-60 et promonocytaire U937 sont résistantes à l'injection de toxine, bien que PopB et PopD soient associées à la membrane. Après différenciation en neutrophiles, ou en monocytes/macrophages, ces cellules deviennent sensibles à l'injection sans que l'on détecte de variation notable de la quantité de protéines du translocon insérées dans la membrane. Le traitement des cellules HL-60 sensibles avec un agent déplétant le cholestérol, entraîne une diminution de l'injection de toxine. De plus, la protéine PopB est retrouvée dans la fraction membranaire, obtenue par purification sur gradient de sucrose, contenant le marqueur des radeaux lipidiques flotilline. Par une approche pharmacologique, nous apportons la preuve que, en plus de la composition de la membrane, des voies de signalisation intracellulaires impliquées dans la polymérisation de l'actine sont essentielles pour la formation d'un pore fonctionnel.

Afin de limiter votre attente si vous venez de l'extérieur du CEA, contactez Odile Rossignol (tel. : 04 38 78 45 63 Email odile.rossignol@cea.fr) en précisant vos date, lieu de naissance, nationalité et nom de jeune fille pour les femmes. Une autorisation d'entrée sera établie avant votre arrivée. Les auditeurs étrangers (hors CEE) sont invités à demander cette autorisation d'entrée au moins une semaine avant la date du séminaire. N'oubliez pas de vous munir d'une pièce d'identité.

Direction des Sciences du Vivant
Institut de Recherches en Technologies et Sciences pour le Vivant - iRTSV
CEA - 17 rue des Martyrs - 38054 Grenoble cedex 9
<http://www-dsv.cea.fr/irtsv/agenda>