

Proposition de stage

Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : Microbiologie de l'Eau, laboratoire EBI, UMR CNRS 7267
Adresse : 1 Rue Georges Bonnet, 86073 Poitiers, cedex 9
Responsable du Laboratoire / Entreprise : Jean-Marc Berjeaud
Responsable de l'encadrement : Ascel SAMBA
Téléphone : 0549454013
E-mail : ascel.samba@univ-poitiers.fr

2. Description du stage (2 pages maximum) :

Titre : Inhiber l'expression du gène *csp21* chez l'amibe *Acanthamoeba castellanii*

Mots clés : amibes, enkystement, siRNA, cyst-specific protein (*csp*) 21

Contexte et objectifs généraux :

Les amibes libres sont des protozoaires répartis de façon ubiquitaire dans l'environnement. Elles se nourrissent de bactéries qu'elles phagocytent puis digèrent. Toutefois, de nombreuses bactéries pathogènes résistent à la digestion amibienne. Elles survivent et prolifèrent à l'intérieur de l'amibe avant d'induire la lyse de la cellule hôte. Les bactéries qui en résultent présentent un phénotype plus résistant et plus virulent. Les amibes libres servent donc de réservoir et de vecteur pour de nombreuses bactéries pathogènes. L'association entre les amibes et les bactéries peut donc représenter un problème majeur de santé publique. Les amibes libres ont un cycle de vie qui oscille entre une forme végétative, lorsque les conditions sont favorables, appelée "trophozoïte" et une forme de résistance appelée "kyste". L'utilisation de biocides dans le traitement de l'eau élimine les trophozoïtes et sélectionne les amibes en kystes. Cette forme permet la survie de l'amibe jusqu'à ce que les conditions redeviennent favorables (présence de nutriments, osmolarité et pH adéquats, ...). De nombreuses études ont montré la présence de bactéries à l'intérieur des kystes. Ainsi, en plus de leur rôle dans la prolifération bactérienne, les amibes libres protègent les bactéries contre les traitements anti-microbiens. Une meilleure connaissance des fonctions amibiennes est donc nécessaire pour l'élimination des bactéries et de leurs hôtes amibiens.

Projet de stage :

L'étude de la physiologie des amibes libres se heurte à la difficulté à manipuler génétiquement ces organismes. Il existe peu de transfectants lipidiques efficaces contre les amibes ; à ce jour, seuls deux plasmides sont disponibles et les expériences d'interférence à l'ARN (comme le siRNA), bien que rapportée dans la littérature, sont difficiles à reproduire. Nous souhaitons mettre au point une technique de transfection des ARN interférents efficace chez l'amibe *Acanthamoeba castellanii*.

Les objectifs de ce stage M2 sont :

Mettre au point une technique d'inhibition de l'expression génique (reproductible) par si, mi, ou sh RNA ?

Voilà les principales questions associées à ce stage. Nous utiliserons l'amibe *Acanthamoeba castellanii* dont le génome a été séquencé. La technique d'inhibition de l'expression génique choisie sera mise au point ou validée via le gène *csp21*. En effet, l'expression de ce dernier peut être induite de manière spécifique (durant l'enkystement).

Bibliographie :

Samba-Louaka A, Delafont V, Rodier MH, Cateau E, Héchard Y. Free-living amoebae and squatters in the wild: ecological and molecular features. FEMS Microbiol Rev. 2019 Jul 1;43(4):415-434.

Ce stage peut-il se poursuivre par une thèse ? : Non