

Proposition de stage

Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

Responsables : Dr. Fabien JOUX (UPMC) / Pr. Cécile BERNARD (MNHN)

1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : Laboratoire Anses de Fougères
Adresse : 10B rue Claude Bourgelat – Javené, 35306 Fougères cedex
Responsable du Laboratoire / Entreprise : Pascal Sanders
Responsable de l'encadrement : Antoine Huguet
Téléphone : 02 99 17 27 43
Fax : 02 99 94 78 80
E-mail : antoine.huguet@anses.fr
Co-encadrant éventuel :

Perspectives de poursuite de thèse :

- oui
- non

avec une bourse spécifique

- oui
- non

2. Titre, description du sujet, approches utilisées, références (2 pages maximum) :

Sujet de recherche : Recherche des mécanismes d'influx et d'efflux de la cylindrospermopsine dans des modèles cellulaires humains.

Contexte scientifique : Les cyanobactéries sont des organismes procaryotes capables de proliférer massivement dans les eaux douces en raison de l'eutrophisation. Certaines souches de cyanobactéries peuvent produire et libérer dans l'environnement des toxines, appelées cyanotoxines. Ainsi la consommation d'aliments contaminés (produits de la pêche, fruits et légumes) et l'ingestion d'eau contaminée qui peut avoir lieu, outre via l'eau de boisson, lors de baignade et autres activités aquatiques constituent un problème sanitaire pour la population, ces toxines étant retrouvées fréquemment dans les zones tropicales, mais aussi plus récemment en Europe. En général les toxines intracellulaires sont libérées dans l'environnement lors de la lyse cellulaire. Cependant dans le cas de la cylindrospermopsine (CYN), une proportion importante peut être libérée dans le milieu par les cellules en croissance ; elle se différencie donc des autres cyanotoxines par sa présence dans l'environnement sous deux formes : intra et extracellulaire. Cette toxine a été détectée comme responsable de l'intoxication de Palm Island (Australie) en 1979, et le potentiel cancérigène de cette molécule est suspecté. Cette toxine ayant émergé plus

récemment dans les zones tempérées, de nombreuses études sont menées afin de mieux caractériser le danger qu'elle représente. Il a été constaté *in vitro* des différences de toxicité selon le modèle cellulaire employé, les modèles hépatocytaires étant généralement plus sensibles. Ces différences pourraient être expliquées par des capacités métaboliques différentes entre les modèles utilisés, mais aussi par des cinétiques d'entrée et de sortie variables selon le niveau expressionnel des différents transporteurs impliqués dans ces phénomènes. Dans le cas de la CYN, son entrée semble être rapide et non-énergie dépendante tandis que sa sécrétion active est énergie dépendante, mais les informations concernant les mécanismes impliqués restent limitées.

Objectif de l'étude : Rechercher les mécanismes d'influx et d'efflux de la cylindrospermopsine dans des modèles cellulaires humains.

Stratégie : Nous déterminerons les mécanismes de cinétique par des études de compétition avec d'autres composés.

Outils : Nous utiliserons deux modèles de cellules humaines, les lignées intestinale Caco-2 et hépatocytaire HepaRG, car l'ingestion orale constituant la voie majeure d'exposition pour l'homme, l'intestin et le foie sont les premiers organes acteurs de la détoxification. Des études de cytotoxicité de la CYN en présence de composés substrats de protéines d'influx ou d'efflux nous permettront d'évaluer l'implication de ces protéines dans le transport de la CYN. De plus des expérimentations d'accumulation de composés fluorescents substrats de ces transporteurs seront réalisés en présence ou non de CYN. Enfin, une caractérisation du niveau d'expression des différents transporteurs dans les deux modèles cellulaires sera réalisée.

Rémunération du stagiaire : Lors de son stage, l'étudiant bénéficiera d'une gratification d'environ 520 euros par mois.