

Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien (IPHC, UMR7178)

Département des Sciences Analytiques

Laboratoire de Spectrométrie de Masse BioOrganique (resp. Dr S. CIANFERANI)
25 rue Becquerel, 67087 Strasbourg Cedex 02

Directeur de thèse : Dr C. SCHAEFFER-REISS (christine.schaeffer@unistra.fr)

Titre de la thèse :

Etude des processus protéolytiques chez *Toxoplasma gondii* à l'aide des outils de l'analyse protéomique développés pour la caractérisation des extrémités N-terminales

Description du projet :

La caractérisation des sites de clivages des protéines par les protéases est un problème souvent rencontré en biologie. En effet, ces clivages protéolytiques sont essentiels à la régulation de l'activité de la protéine ou de sa localisation cellulaire. Pour déterminer les modifications qui s'opèrent aux extrémités N-terminales des protéines, une approche spécifique d'analyse protéomique, qui combine une méthodologie de marquage chimique, de spectrométrie de masse et de bioinformatique, a été mise au point au laboratoire^[1, 2].

L'objectif de ce stage est de caractériser les clivages protéolytiques des extrémités N-terminales de certaines protéines du parasite intracellulaire obligatoire *Toxoplasma gondii*. En effet, des études préalables ont permis de démontrer qu'un processus de clivage est requis pour l'adressage de protéines dans certains organites intracellulaires sécrétoires spécifiques aux apicomplexes (les rhoptries et micronèmes) et à l'activité de ces protéines une fois sécrétées dans la cellule hôte^[3]. Ainsi cette activité de clivage protéolytique régule indirectement d'importantes fonctions essentielles à la survie du parasite telles que la motilité du parasite, sa pénétration dans la cellule hôte, et sa réplication. La caractérisation de ces processus protéolytiques a donc pour objectif, à plus long terme, d'identifier des cibles thérapeutiques potentielles.

La mise en place de cette méthodologie spécifique d'analyse protéomique permettra donc de déterminer l'état de maturation de chaque protéine cible et/ou son degré d'activation après clivage protéolytique, ainsi que la localisation intracellulaire (Golgi, endosomes, organites immatures) où a lieu ce clivage protéolytique. Par conséquent, ces informations sont capitales pour déterminer les mécanismes complexes régulant la biogénèse des rhoptries et micronèmes, et l'activité des protéines contenues dans ces organites après leur sécrétion, qui jouent un rôle crucial pour l'invasion et la survie de *Toxoplasma gondii*.

Le projet est mené en collaboration avec des biologistes de l'Institut Pasteur de Lille qui produisent les différentes souches parasitaires d'intérêt.

1. Westermann, B., Jacome, A. S. V., Rompais, M., Carapito, C., and Schaeffer-Reiss, C. (2017). Doublet N-Terminal Oriented Proteomics for N-Terminomics and Proteolytic Processing Identification, *Methods Mol Biol*, 1574, 77-90.
2. Bertaccini, D., Vaca, S., Carapito, C., Arsene-Ploetze, F., Van Dorsselaer, A., and Schaeffer-Reiss, C. (2013). An improved stable isotope N-terminal labeling approach with light/heavy TMPP to automate proteogenomics data validation: dN-TOP, *J Proteome Res*, 12, 3063-3070.
3. Tomavo, S., Slomianny, C., Meissner, M., and Carruthers, V. B. (2013). Protein trafficking through the endosomal system prepares intracellular parasites for a home invasion, *PLoS Pathog*, 9, e1003629.