

Proposition de stage M2 2023-24

Nom du responsable de stage : Laura BACIOU

Ecole Doctorale de Rattachement : ED2MIB

Nom du Laboratoire : ICP UMR8000 CNRS Université Paris Saclay

Directeur : Guillaume Van der Rest

Adresse complète : Bat 349/350 15 avenue Jean Perrin, Université Paris Saclay, Orsay

Titre du stage

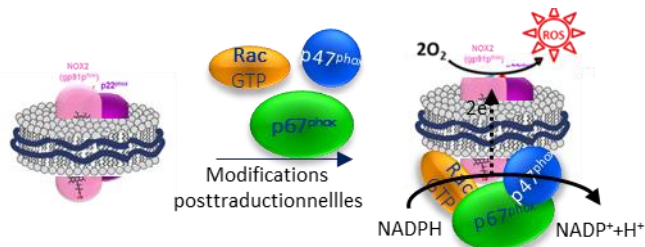
Development of functional membrane enzyme complex in nanodisks

Développement d'un complexe enzymatique membranaire fonctionnel en nanodisques

Résumé du projet:

Le complexe membranaire NADPH oxydase est la seule enzyme connue à ce jour dédiée à la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS, *reactive oxygen species*) dans les cellules. Ce rôle est crucial dans de nombreuses fonctions physiologiques impliquant l'homéostasie redox cellulaire, mais il est particulièrement important dans la défense immunitaire innée. En effet, dans les cellules phagocytaires circulantes dans le sang, les ROS générés par la NADPH oxydase sont indispensables dans la défense contre les pathogènes. L'importance de son rôle est illustrée par des déficiences immunitaires sévères et mortelles (Granulomatoses Septiques Chroniques) lorsque cette enzyme n'est plus fonctionnelle dans les neutrophiles. A l'opposé, une surproduction de ROS par cette enzyme conduit à des situations inflammatoires participant à diverses pathologies graves (cancer, maladies neurodégénératives, diabète).

La régulation de cette enzyme se fait au travers d'interactions protéine-protéine et protéine-lipide qui permet un assemblage coordonné d'au moins cinq protéines membranaires et cytosoliques. Récemment la structure des sous-unités membranaires dites au repos a été déterminée. Cependant la structure du complexe assemblé et actif n'est pour l'instant pas connue. Comme le rôle de l'environnement membranaire est crucial dans cet assemblage, l'objectif du stage est d'élaborer des nanodisques à l'aide de différents types de polymères pour comprendre comment consolider l'assemblage du complexe actif. Les études fonctionnelles et conformationnelles seront menées afin d'apporter à terme un profil complet du complexe sous sa forme active.



The NADPH oxidase membrane complex is the only enzyme known to date dedicated to the production of reactive oxygen species (ROS) in cells. This role is crucial in many physiological functions involving cellular redox homeostasis, but

is particularly important in innate immune defence. In phagocytic cells circulating in the blood, the ROS generated by NADPH oxidase are essential for defence against pathogens. The importance of its role is illustrated by severe and fatal immune deficiencies (Chronic Septic Granulomatosis) when this enzyme is no longer functional in neutrophils. Conversely, overproduction of ROS by this enzyme leads to inflammatory situations that contribute to various serious pathologies (cancer, neurodegenerative diseases, diabetes).

This enzyme is regulated by protein-protein and protein-lipid interactions that enable the coordinated assembly of at least five membrane and cytosolic proteins. Recently, the structure of the resting membrane subunits has been determined. However, the structure of the assembled and active complex is not yet known. As the role of the membrane environment is crucial in this assembly, the aim of the internship is to construct nanodiscs using different types of polymers in order to understand how to consolidate the assembly of the active enzyme complex. Functional and conformational studies will be carried out in order to eventually provide a complete profile of the complex in its active form.

Références éventuelles de l'équipe sur le sujet

Al Abyad et al, Role of the phospholipid binding sites, PX of p47^{phox} and PB region of Rac1, in the formation of the phagocyte NADPH oxidase complex NOX2, **BBA Biomembranes**, doi 10.1016/j.bbamem.2023.184180

Bouraoui et al. New insights in the molecular regulation of the NADPH oxidase 2 activity: Negative modulation by Poldip2, **Free Radic Biol Med**, 2022, doi 10.1016/j.freeradbiomed.2023.02.019

Serfaty, X. et al. Impacts of vesicular environment on Nox2 activity measurements in vitro **BBA General subjects**, 2021, doi: 10.1016/j.bbagen.2020.129767

- Owusu, S.B., et al., *Radiation-induced reactive oxygen species partially assemble neutrophil NADPH oxidase*. **Free Radic Biol Med**, 2020, **doi:** 10.1016/j.freeradbiomed.2020.12.233
- Baciou, L. et al Phagocyte NADPH oxidase, oxidative stress and lipids: Anti- or pro ageing? **Mech. Ageing Develop.** 2018, **doi:** 10.1016/j.mad.2017.11.001
- Wu, X. et al. *Mechanistic Insights on Heme-to-Heme Transmembrane Electron Transfer Within NADPH Oxydases From Atomistic Simulations*, **Front Chem.** 2021 **doi:** 10.3389/fchem.2021.650651