

PROPOSITION DE STAGE DE MASTER 2 POUR L'ANNÉE 2019-2020

Sujet : Rôle du trafic intracellulaire dans la barrière épidermique

RENSEIGNEMENTS SUR L'EQUIPE D'ACCUEIL

Intitulé: Groupe « Différentiation terminale du kératinocyte »

Responsable(s) : Michel Simon, DR2 INSERM

Laboratoire ou entreprise : UDEAR, INSERM U1056, Université de Toulouse, Hôpital Purpan, Place du Dr Baylac, TSA40031, 31059 Toulouse cedex 09

Site web : www.udear.cnrs.fr

RENSEIGNEMENTS SUR LE SUJET

L'épiderme, un épithélium stratifié constitué à 90% de kératinocytes, est une barrière vitale pour l'organisme. Les kératinocytes se multiplient dans la couche basale et se différencient en même temps qu'ils progressent vers la surface de la peau, avant d'être éliminés par desquamation. La couche la plus superficielle est la couche cornée, hautement protectrice et constituée de cellules mortes anucléées. Sous-jacente est la couche granuleuse composée de kératinocytes qui manifestent des propriétés sécrétrices. Leur cytoplasme est rempli d'organites appelés « corps lamellaires », véritables vésicules sécrétoires de la peau. Ces vésicules contiennent des lipides, protéines, peptides anti-microbiens ...etc, qui seront déversés dans l'espace extracellulaire à la jonction de la couche cornée. Le trafic intracellulaire et la sécrétion des corps lamellaires sont donc des processus déterminants pour la composition et la fonction de la couche cornée. Des études antérieures ont montré que ce processus de sécrétion était défaillant dans certaines pathologies cutanées (ichtyoses, dermatite atopique ...). Cependant, les mécanismes moléculaires conduisant à la régulation du trafic des corps lamellaires sont encore très mal connus.

Dans le cadre des travaux réalisés au laboratoire, notre équipe a montré que la GTPase Rab11a jouait un rôle crucial dans la biogenèse des corps lamellaires de l'épiderme (Reynier et al., 2016) et qu'un de ses effecteurs, le moteur moléculaire Myosine 5b, contrôlait leur trafic et maturation (Reynier et al., 2019).

Le travail de recherche qui sera réalisé pour ce Master 2 vise à poursuivre la caractérisation des voies moléculaires régulant le trafic des corps lamellaires jusqu'à leur sécrétion à la membrane apicale des kératinocytes. Nous focaliserons notre étude sur des effecteurs de la GTPase Rab11a, différents de la Myosine 5b. Les expériences seront majoritairement réalisées sur des épidermes humains normaux et sur des épidermes reconstruits *in vitro*, ces derniers ayant l'avantage d'être manipulables génétiquement.

Nous analyserons :

- i) L'expression et la distribution des molécules effectrices d'intérêt dans l'épiderme humain normal et reconstruit.
- ii) L'effet d'une déplétion par interférence ARN: sur la biogenèse et le trafic des corps lamellaires, sur la composition de la couche cornée, sur la fonction barrière de l'épiderme.
- iii) L'effet d'une surexpression de formes mutantes, potentiellement fusionnées à la GFP : sur le trafic des corps lamellaires et la fonction barrière de l'épiderme.
- iii) Les épidermes normaux ou modifiés génétiquement feront l'objet d'une analyse approfondie par imagerie 3D permettant de resituer tous ces acteurs dans l'architecture du kératinocyte granuleux et du tissu.

Cette étude permettra de mieux cerner quels éléments moléculaires sont susceptibles de contribuer à la mise en place et au maintien de la barrière épidermique dans la peau normale et d'être altérés dans certaines pathologies cutanées.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES:

- Reynier M, Allart S, Goudounèche D, Moga A, Serre G, Simon M, Leprince C. The Actin-Based Motor Myosin Vb Is Crucial to Maintain Epidermal Barrier Integrity. *J Invest Dermatol*. 2019. doi: 10.1016/j.jid.2018.12.021. In press.

- Reynier M, Allart S, Gaspard E, Moga A, Goudounèche D, Serre G, Simon M, Leprince C. Rab11a Is Essential for Lamellar Body Biogenesis in the Human Epidermis. 2016. *J Invest Dermatol*. 2016. 136:1199-1209.

- Pellerin L, Henry J, Hsu CY, Balica S, Jean-Decoster C, Méchin MC, Hansmann B, Rodriguez E, Weindinger S, Schmitt AM, Serre G, Paul C, Simon M. Defects of filaggrin-like proteins in both lesional and nonlesional atopic skin. 2013. *J Allergy Clin Immunol*. 131:1094-102.

PRECISIONS SUR LES TECHNIQUES UTILISEES:

Culture de kératinocytes humains, transduction lentivirale, purification d'ARN et RT-PCR quantitative, préparation d'extraits protéiques et Western-blot, immunohistologie, microscopie confocale et microscopie électronique.

RESPONSABLE(S) DE STAGE:

Nom, Prénom : LEPRINCE Corinne, CR1 INSERM

E-mail: corinne.leprince@inserm.fr

Tél. : 0561158428