

Glycolipid- and Lectin-Dependant Endocytosis Studies by a Chemical Biology Approach

Une approche de chemobiologie pour étudier l'endocytose dépendante des glycosphingolipides et des lectines

Joanna ZELL

Supervisors : Ludger Johannes, Frédéric Schmidt

Préparée à l'Institut Curie, UMR3666/U1143 Chemical Biology of Membranes and Therapeutic Delivery, et l'Université de Paris Diderot

Résumé : Les techniques biologiques actuelles ne permettent pas la réintroduction fonctionnelle des glycosphingolipides (GSLs) à longue chaîne dans les cellules. Nous proposons de développer des outils moléculaires permettant la reconstitution des GSLs fonctionnels de manière contrôlée, en combinant le marquage métabolique et la chimie *click* sans cuivre. Les outils moléculaires sont validés par la toxine de Shiga, qui pénètre dans la cellule hôte indépendamment de la machinerie clathrine intracellulaire, en se liant à son récepteur cellulaire GSL, le globotriaosylcéramide (Gb3-Cer), par un mécanisme d'endocytose récemment décrit, appelé GL-Lect (glycolipide-lectine). Selon l'hypothèse GL-Lect, les lectines cellulaires ou pathogéniques induisent la constitution de puits endocytiques en réorganisant les lipides membranaires de façon à favoriser la formation de courbures membranaires locales. La technique de reconstitution des GSLs qui est décrite ici s'applique à la découverte des partenaires d'interaction des GSL dans l'étude de l'endocytose GL-Lect.

Mots clefs : Glycosphingolipides, marquage métabolique, chimie *click* sans cuivre

Abstract: Current biological techniques do not permit the functional reintroduction of long-chain glycosphingolipids (GSLs) into cells. We aim to develop molecular tools permitting cellular reconstitution of functional GSLs in a controlled manner, combining metabolic labelling of sphingolipids with copper-free *click* chemistry. Molecular tools are validated with the bacterial Shiga toxin, which gains entry to cells independently of the canonical intracellular clathrin machinery on binding to its GSL cell receptor, globotriaosylceramide (Gb3-Cer), through a recently described mechanism of endocytosis, termed GL-Lect (glycolipid-lectin). According to the GL-Lect hypothesis, cellular or pathogenic lectins drive the construction of endocytic pits by reorganising membrane lipids so as to favour the formation of narrow membrane curvature. The GSL reconstitution technique that is described here is applicable to the discovery of GSL binding partners in the study of GL-Lect-mediated endocytosis.

Keywords: Glycosphingolipid, metabolic labelling, copper-free *click* chemistry

Thèse complète disponible : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-03008821/document>