



Université Claude Bernard



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : 11 février 2020

Nom de famille et prénom de l'auteur : LAURIAN Romain

Titre de la thèse : «*Hexokinase et glucokinases chez la levure pathogène *Candida albicans* : implication dans la physiologie et la virulence*».



Résumé

La levure *Candida albicans*, constituant de la microflore pathogène et commensale de l'homme colonise et infecte de nombreux organes. Cette colonisation est permise par la flexibilité métabolique de ce pathogène, dont la survie dépend de l'assimilation de sources carbonées fermentescibles ou non, localement disponibles. Parmi ces ressources, le glucose est présent en faible quantité dans certains sites du corps humain. Cette source de carbone étant préférentiellement utilisée par les microorganismes, sa détection et sa métabolisation optimales sont de première importance pour la survie du pathogène. Les travaux effectués au cours de cette thèse ont été focalisés sur la première étape irréversible de la glycolyse, la conversion du glucose en glucose-6-phosphate par les hexoses kinases, jamais décrites chez *C. albicans*.

Le système des hexoses kinases chez *C. albicans* est constitué d'une hexokinase (*CaHxk2*) et de deux glucokinases (*CaGlk1* et *CaGlk4*). La construction de différentes combinaisons de mutants de délétion, nous a permis de constater que la phosphorylation des hexoses était principalement assurée par l'hexokinase 2. L'analyse de l'expression des gènes codant pour l'hexokinase et les glucokinases a révélé une absence de régulation transcriptionnelle croisée et des mécanismes de régulation différents. Tandis que l'hexokinase est impliquée dans les réponses aux stress oxydant, osmotique et de paroi, les glucokinases sont surexprimées en condition hypoxiques. La phosphorylation des hexoses est une étape clé nécessaire à la transition filamenteuse qui est affectée chez le mutant hexokinase. L'analyse de la virulence des mutants de délétion conduite dans deux pathosystèmes différents (le modèle insecte *Galleria mellonella* et le modèle macrophage de souris (J774)), a révélé l'hypovirulence du mutant hexokinase 2, alors que la délétion des glucokinases ne conduit à aucun phénotype remarquable, posant la question du rôle physiologique de ces enzymes.

Nos travaux ont ensuite exploré le rôle régulateur de l'hexokinase 2 impliquée dans la signalisation glucose, voie de régulation élaborée par les microorganismes pour privilégier l'utilisation du glucose. Chez *C. albicans*, le système de répression glucose a été globalement conservé mais le rôle des différents acteurs et plus particulièrement de l'hexokinase 2 n'a jamais été précisé. Nos travaux ont permis de démontrer qu'en présence de glucose, l'hexokinase 2, *CaHxk2*, est relocalisée dans le noyau et régule négativement l'expression des gènes du métabolisme carboné alternatif. Des expériences de délétion ciblées ont permis de mettre en évidence que la fonction

catalytique de l'hexokinase 2 était requise pour permettre à l'enzyme d'exercer sa fonction régulatrice.

Parallèlement nous avons mené une étude de transcriptomique par digital droplet PCR, dans le cadre d'un projet technique ciblé sur l'analyse de la transcription des gènes du métabolisme, au cours des phases très précoces de la phagocytose par les macrophages. Nos travaux ont mis en évidence une induction forte des gènes appartenant aux voies du métabolisme carboné alternatif (β -oxydation, néoglucogenèse, cycle glyoxylique).

Mots-clés : *Candida albicans*, glucose, glycolyse, hexokinase, glucokinases, répression glucose, dimorphisme, virulence