

MASTER 2 BMC PARCOURS GENOPATH ANNÉE 2021-2022

Titre du sujet de stage :

L'hexokinase au-delà de la glycolyse : régulation post-traductionnelle et multifonctionnalité

**Nom, adresse de l'Unité d'accueil / Nom du responsable de l'unité : UMR5240, Microbiologie Adaptation Pathogénie, UCBL1, bâtiment Lwoff, 10 rue Raphaël Dubois, 69622 Villeurbanne.
Directeur : W. Nasser**

Nom, adresse de l'Equipe d'accueil / Nom du responsable d'équipe : Équipe « Signalisation et Mécanismes Adaptatifs chez les Levures » (SMAL), 10 rue Raphaël Dubois, 69622, Villeurbanne

Responsable d'équipe : Alexandre Soulard

Nom, tel, adresse e-mail de l'encadrant de stage :

Alexandre Soulard

tel : 04 72 43 16 97

e-mail : alexandre.soulard@univ-lyon1.fr

Sujet de stage :

En plus de leur rôle bien connu en tant qu'enzymes de phosphorylation du glucose, les hexokinases sont des protéines multi-fonctionnelles impliquées dans de nombreuses autres fonctions cellulaires. Chez les mammifères les hexokinases contrôlent la sécrétion d'insuline, l'apoptose et la longévité. La dérégulation de ces enzymes peut aboutir à des situations pathologiques comme certaines formes de diabète et de cancer (Garcia et al., 2019; Rodríguez-Saavedra et al., 2021; Sternisha and Miller, 2019). Chez *Saccharomyces cerevisiae*, en plus d'être impliquée dans l'apoptose, l'hexokinase Hxk2 est un régulateur transcriptionnel nucléaire inhibant l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme des sources de carbone alternatives (répression du glucose, (Conrad et al., 2014)). Ainsi, comprendre quels sont les mécanismes moléculaires qui contrôlent les fonctions des hexokinases est crucial pour mieux apprécier leur rôle cellulaire en situation physiologique et pathologique.

Parmi les mécanismes moléculaires connus pour contrôler son activité, la phosphorylation de l'hexokinase est particulièrement importante. Par exemple, chez les mammifères, la phosphorylation de la thréonine 473 de HK2 par la protéine kinase AKT favorise la liaison mitochondriale de HK2 et confère une protection contre les espèces réactives de l'oxygène (Roberts et al., 2013). Chez la levure *S. cerevisiae*, la phosphorylation de la sérine 15 de Hxk2 contrôle sa fonction transcriptionnelle pendant la répression du glucose (Conrad et al., 2014).

Des études de phosphoprotéomique récentes chez l'homme et la levure ont montré que les hexokinases sont phosphorylées sur de très nombreux résidus, suggérant un degré élevé de régulation de cette enzyme par phosphorylation (Lanz et al., 2021). Cependant, les conséquences physiologiques de la phosphorylation de cette enzyme sur ses fonctions et sur la physiologie cellulaire restent largement méconnues.

Dans ce projet, nous proposons de caractériser par une approche de mutagenèse dirigée le rôle de la phosphorylation de l'hexokinase sur ses fonctions et lors de l'adaptation cellulaire aux variations de concentration en glucose extracellulaire. À cette fin, les levures seront utilisées comme modèles expérimentaux car elles présentent un haut degré de conservation avec les eucaryotes supérieurs et des outils génétiques, moléculaires et génomiques efficaces pour étudier la signalisation et le métabolisme du glucose.

En fonction des résultats obtenus, cette étude pourra être approfondie dans le cadre d'une thèse

Technologies utilisées :

- Réalisation de mutants non phosphorylables et phosphomimétiques de Hxk2 (biologie moléculaire + quick-change + dellito perfeto)
- Caractérisation phénotypique des mutants (Lecteur de plaque Tecan et test enzymatiques)
- Analyse de l'expression des gènes de la répression glucose (qRT-PCR et/ou rapporteurs transcriptionnels)
- Analyse des interactions des mutants de Hxk2 (GFP-trap)

Mots clés :

Hexokinase, Hxk2, *Saccharomyces cerevisiae*, phosphorylation, mutagenèse dirigée, répression glucose

Publications d'intérêt :

Conrad, M., Schothorst, J., Kankipati, H.N., Van Zeebroeck, G., Rubio-Texeira, M., and Thevelein, J.M. (2014). Nutrient sensing and signaling in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiol. Rev.* *38*, 254–299.

Garcia, S.N., Guedes, R.C., and Marques, M.M. (2019). Unlocking the Potential of HK2 in Cancer Metabolism and Therapeutics. *Curr. Med. Chem.* *26*, 7285–7322.

Lanz, M.C., Yugandhar, K., Gupta, S., Sanford, E.J., Faça, V.M., Vega, S., Joiner, A.M.N., Fromme, J.C., Yu, H., and Smolka, M.B. (2021). In-depth and 3-dimensional exploration of the budding yeast phosphoproteome. *EMBO Rep.* *22*, e51121.

Roberts, D.J., Tan-Sah, V.P., Smith, J.M., and Miyamoto, S. (2013). Akt phosphorylates HK-II at Thr-473 and increases mitochondrial HK-II association to protect cardiomyocytes. *J. Biol. Chem.* *288*, 23798–23806.

Rodríguez-Saavedra, C., Morgado-Martínez, L.E., Burgos-Palacios, A., King-Díaz, B., López-Coria, M., and Sánchez-Nieto, S. (2021). Moonlighting Proteins: The Case of the Hexokinases. *Front. Mol. Biosci.* *8*, 701975.

Sternisha, S.M., and Miller, B.G. (2019). Molecular and cellular regulation of human glucokinase. *Arch. Biochem. Biophys.* *663*, 199–213.