

MASTER 2 BMC

PARCOURS GENOPATH

ANNÉE 2021-2022

Titre du sujet de stage :

Une kinase, une RNase et du glucose : caractérisation d'un mécanisme inédit de régulation de la signalisation glucose chez les levures

**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 :

Marc Lemaire

tel : 04 72 43 16 97

e-mail : marc.lemaire.bio@univ-lyon1.fr

Sujet de stage :

Qu'elles soient microbiennes ou dans un organisme pluricellulaire, toutes les cellules sont confrontées à un environnement extracellulaire fluctuant. Afin de s'adapter à ces changements, les cellules ont développé différents mécanismes de signalisation pour détecter, décoder et répondre correctement aux différents signaux de leur environnement. Parmi ceux-ci, les nutriments sont particulièrement importants et notamment le glucose en tant que source d'énergie/carbone préférée de la majorité des organismes vivants. Cette signalisation du glucose est essentielle au bon fonctionnement des cellules et, selon le contexte cellulaire, ses perturbations sont associées à des situations pathologiques tels que diabète, cancers, infections ou mort cellulaire. L'étude de la réponse des cellules au glucose est donc cruciale pour mieux comprendre leur adaptation à leur environnement. En raison de la conservation de plusieurs processus biologiques avec les eucaryotes supérieurs et de leur facilité de manipulation, les levures sont de puissants modèles pour étudier les mécanismes moléculaires impliqués lors de la signalisation du glucose.

Chez les levures, l'adaptation aux variations de concentration extracellulaire en glucose implique la régulation de nombreux gènes nécessaires au transport et au métabolisme du glucose. Cette régulation fine dépend de voies de signalisation (1,2) qui sont activées par la détection du glucose

extracellulaire par des récepteurs membranaires. Ces voies de signalisations vont alors contrôler l'activité de certains facteurs nécessaires pour l'expression des nombreux gènes impliqués dans l'adaptation métabolique des cellules.

Dans notre laboratoire nous nous intéressons aux mécanismes moléculaires de la signalisation glucose chez les levures. Récemment, nous avons identifié la protéine Rag7 comme étant un nouvel acteur de la signalisation glucose qui pourrait contrôler cette voie par un mécanisme inédit. Rag7 est une grosse protéine (environ 1300 AA) de fonction inconnue composée entre-autres d'un domaine ribonucléase C-terminal PINc (Figure 1). Les domaines PINc sont hautement conservés au cours de l'évolution et sont impliqués dans les systèmes toxine-antitoxine ou la résistance au stress / aux antibiotiques chez les procaryotes, et dans le contrôle de la qualité de l'ARN et la maturation des ribosomes chez les eucaryotes (3).



Figure 1: Représentation linéaire de la structure de la protéine Rag7. Le domaine PINc C-terminal ainsi que ses résidus acides conservés sont indiqués en vert. Les domaines tétratricopeptide (TPR, bleu clair) et Poly Asparagine (Jaune) sont également représentés.

Nous avons pu mettre en évidence que grâce à ce domaine PINc Rag7 était capable de contrôler la signalisation glucose via la régulation de l'état de phosphorylation du facteur de transcription *K/Rgt1*. Des données expérimentales préliminaires suggèrent des interactions fonctionnelles et physiques entre Rag7 et la caséine kinase *K/Hrr25* de *K. lactis* (4). La kinase *K/Hrr25* serait donc un candidat potentiel pour réguler la phosphorylation de ce facteur de transcription.

Le but de ce projet est donc de déterminer si et comment Rag7 contrôle la signalisation glucose via Hrr25. Ceci permettra de décrypter en partie un mécanisme de contrôle de la signalisation glucose totalement inédit et original impliquant l'action coordonnées d'une RNase (Rag7) et d'une kinase.

En Fonction des résultats obtenus cette étude pourra être poursuivie et approfondie lors d'une thèse.

Technologies utilisées :

- Mutagenèse ciblée dans le génome du gène *KIHRR25* (mutations ponctuelles pour générer des mutants kinase-inactifs)
- Analyse phénotypique des mutants de *KIHRR25*
- Analyse de l'impact de ces mutations sur l'expression de différents gènes régulés par la signalisation glucose (RT-qPCR et/ou fusions transcriptionnelles)
- Analyse de l'interaction physique entre ces mutants de *K/Hrr25* et Rag7 (double hybride, co-immunoprécipitation).

Mots clés :

Signalisation glucose, *Kluyveromyces lactis*, Hrr25, caséine kinase, Rag7, domaine PIN, RNase

Publications d'intérêt :

- 1 - Horák J. 2013. Regulations of sugar transporters: insights from yeast. *Curr. Genet.* 59:1–31.
- 2 - Cairey-Remonnay A, Deffaud J, Wésolowski-Louvel M, Lemaire M, Soulard A. 2014. Glycolysis Controls Plasma Membrane Glucose Sensors to Promote Glucose Signaling in Yeasts. *Mol. Cell. Biol.* 35:747-57
- 3 - Senissar M., Manav M.C., Brodersen D.E. 2017. Structural conservation of the PIN domain active site across all domains of life. *Protein Science* 26: 1474-1492
- 4 - Zhang B, Butler AM, Shi Q, Xing S, Herman PK. 2018. P-Body Localization of the Hrr25/Casein Kinase 1 Protein Kinase Is Required for the Completion of Meiosis. *Mol Cell Biol* 38.