

METABOTRYP - MIME-2007

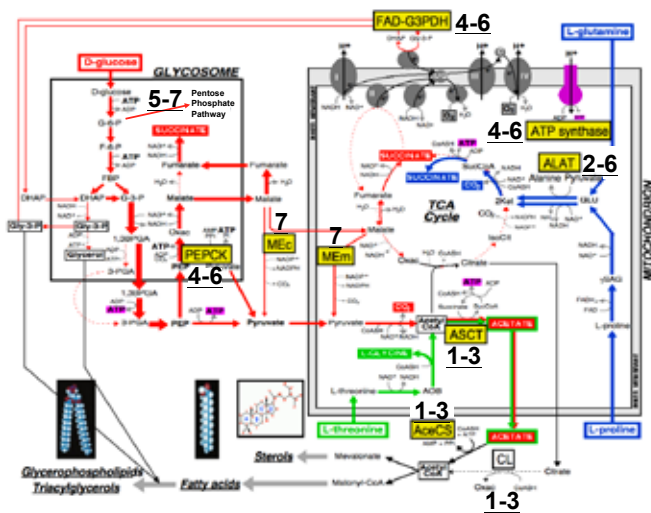
Frédéric Bringaud et Jean-Michel Franconi (UMR5536, Université Segalen Bordeaux, Bordeaux), Jean-Charles Portais (MetaSys, INSA, Toulouse)



Vers une compréhension intégrée du métabolisme intermédiaire et énergétique des trypanosomes

Contexte et Objectif

Trypanosoma brucei est un protozoaire parasite responsable de maladies humaine (maladie du sommeil) et vétérinaires majeures. L'achèvement, fin 2005, du séquençage du génome de *T. brucei*, a permis de préciser ses potentialités métaboliques, très atypiques. Avec l'avènement de l'ARN interférence, outil puissant de génétique inverse, la forme procyclique de *T. brucei* est devenue le modèle d'étude du métabolisme de cette famille de parasites. En nous appuyant sur ces outils, combinés à une stratégie d'analyse métabolique globale (métabolomique par RMN, spectrométrie de masse, suivi isotopique, etc), notre objectif est de mieux comprendre l'organisation, le fonctionnement et la régulation du métabolisme de *T. brucei*, et plus spécifiquement de caractériser les adaptations métaboliques associées aux changements de nutrition carbonée qui conditionnent la survie du parasite. Une compréhension plus globale de du métabolisme intermédiaire et énergétique de *T. brucei* permettra d'identifier des étapes clés potentiellement candidates comme cibles thérapeutiques.



Resultats et Conclusions

Les travaux effectués dans le cadre de ce projet ont permis (1) d'identifier une nouvelle voie métabolique essentielle pour le parasite ([article 1](#)), (2) de caractériser les étapes clés dans la régulation des flux métaboliques glycosomaux (organelle apparentée au peroxisomes où se déroule la glycolyse) ([article 4](#)), (3) de déterminer le rôle métabolique d'étapes enzymatiques clés ([articles 2, 5 et 7](#)), et (4) de faire l'état des lieux des connaissances dans ce domaine ([articles 3 et 6](#)).

(1) Une partie de l'acétyl-CoA produit dans la mitochondrie des eucaryotes doit être transférée dans le cytosol pour alimenter la biosynthèse lipidique (voir schéma ci dessus). La plupart des eucaryotes utilisent la navette citrate pour effectuer ce transfert, or nous avons montré que la citrate synthase (CL), étape clé de cette navette, n'existe pas chez les trypanosomes. Ces parasites ont développé une alternative, appelée "navette acétate", que nous avons caractérisée à ce jour uniquement dans les trypanosomes ([article 1](#)). Cette nouvelle navette consiste en la production d'acétate dans la mitochondrie à partir

de l'acétyl-CoA par l'acétate:succinate CoA-transférase (ASCT). L'acétate sort de la mitochondrie pour être converti en acétyl-CoA par l'acétyl-CoA synthase (AceCS), qui est essentielle à la viabilité du parasite et à la biosynthèse lipidique ([article 1](#)). Ces travaux ont également permis d'identifier une nouvelle cible thérapeutique (AceCS) que nous projetons de valoriser en développant des inhibiteurs.

(2) Les glycosomes sont des compartiments clos ne permettant pas l'échange de molécules telles que l'ATP et le NAD⁺. Par conséquent, les balances redox (NAD⁺/NADH) et ATP/ADP glycosomales doivent-être maintenues (la consommation et la régénération doivent-être équilibrées). Trois voies métaboliques sont théoriquement utilisables pour équilibrer la balance redox glycosomale, i.e. la production de succinate, la navette DHAP/G3P et la production de glycérol. Une dizaine de simples et doubles mutants (KO et/ou RNAi) affectant une ou plusieurs de ces voies ont été produits et analysés par des approches métaboliques globales. Cette étude a permis de montrer une hiérarchisation dans l'utilisation de ces voies métaboliques et de mettre en évidence des adaptations métaboliques permettant de compenser la perte de la principale voie utilisée (production de succinate) ([article 4](#)).

(3) La proline est la principale source de carbone utilisée par la forme parasitaire de l'insecte vecteur. Nous avons caractérisé et mis en évidence le rôle essentiel de l'alanine aminotransférase (ALAT) dans le métabolisme de ce parasite ([article 2](#)). La production de NADPH est essentielle à la détoxication des radicaux libres produits en particulier dans des conditions de stress. La voie des pentoses phosphates et les enzymes maliques sont les principales voies productrices de NADPH. Nous avons participé à la caractérisation et l'analyse fonctionnelle de la transketolase, enzyme clé de la voie des pentoses phosphates ([article 5](#)) et décodé le rôle des enzymes maliques cytosoliques et mitochondriales dont le caractère essentiel n'avait pas été suspecté chez ces parasites ([article 7](#)).

Publications et Valorisation

- Rivière L., P. Moreau, S. Allmann, M. Hahn, M. Biran, N. Plazolles, J.M. Franconi, M. Boshart & F. Bringaud (2009) Acetate produced in the mitochondrion is the essential precursor for lipid biosynthesis in procyclic trypanosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106:12694-12699.
- Spitznagel D., C.E. Ebikeme, M. Biran, N. Nic A Bhaire, F. Bringaud, G.T. Hanahan & D.P. Nolan (2009) Alanine aminotransferase of *Trypanosoma brucei* - a key role in proline metabolism in procyclic life forms. *FEBS J.* 276:7187-7199.
- Bringaud F., C.E. Ebikeme & M. Boshart (2010) Acetate and succinate production in amoebae, helminths, diplomonads, trichomonads and trypanosomatids: common and diverse metabolic strategies used by parasitic lower eukaryotes. *Parasitology* 137:1315-1331.
- Ebikeme C.E., J. Hubert, M. Biran, G. Gouspillou, P. Morand, N. Plazolles, F. Guegan, P. Diolez, J.-M. Franconi, J.-C. Portais & F. Bringaud (2010) Ablation of succinate production from glucose in the procyclic trypanosomes induces metabolic switches to the G3P/DHAP shuttle and to proline metabolism. *J. Biol. Chem.* 285:32312-32324.
- Stoffel S.A., V.P. Alibu, J. Hubert, C.E. Ebikeme, J.-C. Portais, F. Bringaud, E.M. Schweingruber & M.P. Barrett (2011) Transketolase in *Trypanosoma brucei*. *Mol. Biochem. Parasitol.* In press.
- Bringaud F., M.P. Barrett & D. Zielberstein (2011) Multiple roles of proline transport and metabolism in trypanosomatids. *Frontiers in Bioscience* In press.
- Allmann S., P. Morand, J. Hubert, N. Plazolles, C.E. Ebikeme, M. Biran, N. Plazolles, A. Cordeiro, J.M. Franconi, P.A.M. Michels, J.-C. Portais, M. Boshart & F. Bringaud. NADPH production in the cytosol of the procyclic trypanosomes. In preparation.

CONTACT :

Bringaud Frédéric
Bringaud@rmsb.u-bordeaux2.fr

