

*vitro*. Plusieurs propriétés moléculaires (descripteurs ou variables) ont été calculées pour les 14 composés étudiés à corrélés avec l'activité biologique. Pour une analyse pratique de vastes ensembles de données, il est nécessaire de réduire la dimensionnalité et de sélectionner les descripteurs les plus pertinents liés à l'activité biologique étudiée. Pour ce faire, les méthodes chimiométriques suivantes ont été employées: analyse de l'élément principal (PCA), classification hiérarchique (HCA), analyse du plus proche voisin (KNN), analyse discriminante par degrés (SDA) et modélisation indépendante de l'analogie de catégorie (SIMCA). Ces méthodes ont indiqué l'énergie électronique moléculaire (Eelet) des descripteurs, la charge sur le premier azote au substituant 2 (qN), le volume du substituant à la position C5 (V-S5), l'angle dièdre (D3) et la longueur du lien entre l'atome C4 et ses substituants (L4) sont responsables de la séparation entre les composés actifs et inactifs contre *T. equiperdum*.

14121. **Turnipseed, S. B., Clark, S. B., Andersen, W. C., Karbiwnyk, C. M., Miller, K. E. et Hurlbut, J. A., 2006.** Confirmation of diminazene diaceturate in bovine plasma using electrospray liquid chromatography-mass spectrometry. [Confirmation du diacéturate de diminazène dans le plasma de bovins au moyen d'une spectrométrie de masse ESI-MS.] *Journal of Chromatography*, **844** (1): 127-133.

Animal Drugs Research Center, Food and Drug Administration, Denver Federal Center, P.O. Box 25087, Denver, CO 80225, E.-U. [sherri.turnipseed@fda.hhs.gov].

Le diacéturate de diminazène est utilisé en tant que trypanocide pour les bovins dans les régions tropicales. La présente communication décrit une méthode LC-MS (n) pour confirmer la présence de diminazène dans le plasma des bovins. Le diminazène lié dans des échantillons de plasma a été libéré avec de l'acide phosphorique dilué, puis concentré sur une cartouche C (18) SPE. La méthode LC-MS (n) a utilisé une ionisation par électrospray associée à un spectromètre de masse avec piège à ions. Les ions observés dans les spectres ioniques de MS (2) et MS (3) ainsi que ceux du spectre de MS (1) ont été surveillés. La méthode a été validée avec des échantillons de plasma fortifiés avec du diacéturate de diminazène (4 à 100 ng/mL). Le diminazène a été confirmé dans des échantillons fortifiés avec du diacéturate de diminazène à des niveaux supérieurs ou égaux à 6,4 ng/mL.

## 8. RECHERCHE SUR LES TRYPANOSOMES

### (a) CULTURE DE TRYPANOSOMES

### (b) TAXONOMIE, CARACTÉRISATION DES ISOLATS

[Voir également **30**: 14138]

14122. **Karlsbakk, E. et Nylund, A., 2006.** Trypanosomes infecting cod *Gadus morhua* L. in the North Atlantic: a resurrection of *Trypanosoma pleuronectidium* Robertson, 1906 and delimitation of *T. murmanense* Nikitin, 1927 (emend.), with a review of other trypanosomes from North Atlantic and Mediterranean teleosts.

[Trypanosomes infectant la morue *G. morhua* L. dans l'Atlantique nord: une résurrection de *T. pleuronectidium* Robertson, 1906 et une délimitation de *T. murmanense* Nikitin, 1927 (amendé), avec un examen des autres trypanosomes provenant des téléostéens de l'Atlantique nord et de la Méditerranée.] *Systematic Parasitology*, **65** (3): 175-203.

Department of Biology, Université de Bergen, Post box 7800, N-5020, Bergen, Norvège. [egil.karlsbakk@bio.uib.no].

Des trypanosomes ont été isolés chez la morue *Gadus morhua* L. de l'Atlantique recueillie dans plusieurs fjords dans l'ouest de la Norvège. Des études morphologiques ont indiqué que les 12 infections étudiées représentaient une espèce unique, identifiée en tant que *Trypanosoma pleuronectidium* Robertson, 1906 qui est résurrectée et décrite de nouveau. Cette espèce est caractérisée par la longueur de son corps (57,9 +/- 5,4 microm), par son noyau presque central (NI = 1,05 +/- 0,12) et sa région post-cinétoplastique (PK) relativement courte (3,2 +/- 0,8 microm). *T. pleuronectidium* est transmis par la sangsue *Calliobdequilla nodulifera* (Malm). *T. murmanense* Nikitin, 1927 (amendé) est limité à une espèce transmise par la sangsue *Johanssonia arctica* (Johansson). Cette espèce est distincte de *T. pleuronectidium* par la longueur de son corps, son noyau plus antérieur, la présence de granules réfractifs dans son cytoplasme, de vacuoles adnucléaires et par une région PK plus longue. Les séquences partielles de SSU ADNr de *T. pleuronectidium* et de *T. murmanense* de Norvège (1980 nt) divergeaient de 1,9 pour cent. Les espèces nominales de trypanosomes de l'Atlantique nord et de la Méditerranée sont examinées et *T. flesi* Lebailly, 1904, *T. bothi* Lebailly, 1905 et *T. limandae* Brumpt et Lebailly, 1904 sont considérés synonymes de *T. platessae* Lebailly, 1904. *T. triglae senegalensis* Ranque, 1973 n'est pas considéré conspécifique avec *T. triglae* Neumann, 1909 et, par conséquent, a été élevé au statut d'espèce en tant que *T. senegalense* Ranque, 1973. Certaines autres synonymies probables sont discutées. En plus de *T. pleuronectidium* et de *T. murmanense*, les trypanosomes marins suivants des téléostéens sont énumérés provisoirement en tant qu'espèces valables en attendant des études ultérieures: *T. callionymi* Brumpt et Lebailly, 1904; *T. cotti* Brumpt et Lebailly, 1904; *T. delagei* Brumpt et Lebailly, 1904; *T. dornhi* Yakimov, 1911; *T. gobii* Brumpt et Lebailly, 1904; *T. laternae* Lebailly, 1904; *T. myoxocephali* Fantham, Porter et Richardson, 1942; *T. platessae* Lebailly, 1904; *T. scorpaenae* Neumann, 1909; *T. soleae* Laveran et Mesnil, 1901; *T. triglae* Neumann, 1909; et *T. yakimovi* Yakimov, 1911.

14123. **Lepesheva, G. I., Hargrove, T. Y., Ott, R. D., Nes, W. D. et Waterman, M. R., 2006.** Biodiversity of CYP51 in trypanosomes. [Diversité biologique de CYP51 dans les trypanosomes.] *Biochemical Society Transactions*, **34** (6): 1161-1164.

Department of Biochemistry, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, TN 37232, E.-U. [galina.i.lepesheva@vanderbilt.edu].

Les 14alpha-déméthylases de stérol (CYP51) sont des cytochromes métaboliques P450, trouvés dans chaque royaume biologique. Elles catalysent une réaction unique en trois étapes incluse dans toutes les voies biosynthétiques de stérol. Les CYP51 des végétaux ont une stricte préférence pour leur substrat physiologique O (obtusifoliol), qui est C-4-monométhylé. Les substrats naturels de CYP51 chez les animaux/champignons (lanostérol,

24, 25-dihydrolanostérol ou 24-méthylènelanostérol) sont C-4-diméthylés. CYP51 provenant du protozoaire pathogène TB (*Trypanosoma brucei*) est le premier exemple de 14alpha-déméthylase du stérol spécifique à O dans les organismes non-photosynthétiques. Ce qui est surprenant, avec une identité des acides aminés de 83 pour cent avec l'orthologue de TB, c'est que CYP51 de TC (*Trypanosoma cruzi*) préfère clairement les stérols C-4-diméthylés. Le remplacement d'Ile (105) de type animal/champignon dans l'hélice B' de CYP51 de TC avec la phénylalanine, le résidu trouvé à cette position dans tous les CYP51 des végétaux et des autres trypanosomes accroît de façon spectaculaire la capacité de l'enzyme à métaboliser O, le convertissant en une 14alpha-déméthylase du stérol plus similaire aux végétaux. Un accroissement de plus de 100 fois de la liaison et du renouvellement est observé pour l'analogue 24-desméthyle d'O [N (norlanostérol)], qui est trouvé *in vivo* dans les formes procycliques de TB et est un bon substrat de CYP51 de TB *in vitro*. Nous croyons (i) que N est un substrat non conventionnel de CYP51, préféré chez TB et peut-être chez d'autres *Trypanosomatidae* et (ii) que la similarité fonctionnelle de CYP51 de TC avec les orthologues d'animaux/champignons résulte d'une convergence évolutive (y compris d'une mutation de F105I), conduisant à différentes voies pour la production de stérol chez TC par rapport à TB.

14124. Maina, N. W., Oberle, M., Otieno, C., Kunz, C., Maeser, P., Ndung'u, J. M. et Brun, R., 2007. Isolation and propagation of *Trypanosoma brucei gambiense* from sleeping sickness patients in south Sudan. [Isolement et propagation de *T. b gambiense* provenant de sommeilleux dans le sud du Soudan.] *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **101** (6): 540-546.

Trypanosomiasis Research Centre (TRC) of KARI, P.O. Box 362, Kikuyu, Kenya et Département de Parasitologie médicale et de Biologie des infections, Institut Tropical Suisse, P.O. Box, CH-4002 Bâle, Suisse.

La présente étude visait à isoler *Trypanosoma brucei gambiense* chez des patients atteints de trypanosomose humaine africaine (THA) originaires du sud du Soudan. Cinquante sommeilleux identifiés au cours de campagnes de dépistage actif ont été recrutés, et la plupart (49/50) avaient atteint la phase avancée de la maladie. Des échantillons de sang et de liquide céphalorachidien prélevés sur les patients ont été cryoconservés avec du Triladyl ((R)) en tant que milieu de cryoconservation. Les échantillons ont été stockés à -150 degrés C dans de la vapeur d'azote liquide dans un emballage cryogénique. Les stabilats de dix-huit patients pouvaient être propagés chez des souris *Mastomys natalensis* immunodéprimées et/ou des souris SCID. La parasitémie était la plus élevée chez les souris SCID. Des repiquages ultérieurs chez *M. natalensis* accroissaient la virulence des trypanosomes et les 18 isolats des souris *M. natalensis* ou des souris SCID devenaient tous infectieux pour d'autres races de souris immunodéprimées. Une comparaison des souris *M. natalensis* et blanches suisses immunodéprimées, des souris C57/BL et BALB/c a démontré que toutes les races de rongeurs étaient sensibles après le deuxième repiquage et développaient une parasitémie  $>10^6$ /ml le jour 5 après l'infection. Les parasitémies les plus élevées étaient obtenues chez les souris C57/BL et BALB/c. Ces résultats indiquent que la propagation d'isolats de *T. b. gambiense* après un isolement initial chez des souris *M. natalensis* immunodéprimées ou des souris SCID peut être effectuée chez une gamme de rongeurs immunodéprimés.

14125. **Njiru Z. K., Constantine C. C., Gitonga P. K., Thompson, R. C. A. et Reid, S. A., 2007.** Genetic variability of *Trypanosoma evansi* isolates detected by inter-simple sequence repeat anchored-PCR and microsatellite. [Variabilité génétique des isolats de *T. evansi* détectés par une ACP ancrée dans les répétitions de la séquence inter-simple (ISSR) et des microsatellites.] *Veterinary Parasitology*, **147**(1-2): 51-60.

School of Nursing – Peel Campus, Murdoch University, Carleton Place, 15-17 Mandurah, WA 6150, Australie, Trypanosomiasis Research Centre, Kenya Agricultural Research Institute, P.O. Box 362, Kikuyu 00902, Kenya, Centre for MEGA Epidemiology, School of Population Health, Université de Melbourne, level 2, 723 Swanston Street, Carlton, Vic. 3053, Australie, et School of Veterinary and Biomedical Sciences, Murdoch University, South Street, Murdoch, WA 6150, Australie. [zknjiru@hotmail.com].

Les études sur la variabilité génétique chez *Trypanosoma evansi* ont été limitées à cause du manque de techniques à haute résolution. Dans la présente étude, nous avons étudié l'utilisation de répétitions de la séquence inter-simple (ISSR) et des microsatellites pour révéler le polymorphisme parmi les isolats de *T. evansi*. Douze amorces d'ISSR et cinq loci de microsatellites ont été utilisés pour générer des bandes et des allèles polymorphes respectivement afin d'étudier la variabilité génétique parmi les isolats de *T. evansi* provenant d'Afrique et d'Asie. Sept des douze amorces d'ISSR présentaient une variabilité entre les isolats avec un total de 71 fragments dont 49 (69 pour cent) étaient polymorphes. L'analyse des microsatellites a révélé un total de 60 allèles. En moyenne, les marqueurs d'ISSR ont révélé une diversité génétique plus élevée (23 pour cent) que les microsatellites (21,1 pour cent). Les deux techniques indiquaient un accord fort de  $r = 0,95$  pour les indices de Dice et de  $r = 0,91$  pour les indices de Jaccard dans l'estimation des distances génétiques entre les isolats. L'arbre de groupement selon l'association moyenne (UPGMA) révélait deux regroupements majeurs de *T. evansi* qui correspondent à la classification en minicercles du sous-type A et B. Le coefficient de corrélation cophénétique entre les matrices de Dice et de Jaccard était  $r = 0,79$  pour les microsatellites et  $r = 0,73$  pour ISSR, ce qui indique un accord fort entre les dendrogrammes. Les résultats suggèrent que les marqueurs d'ISSR et des microsatellites sont tous les deux utiles pour détecter la variabilité génétique au sein de *T. evansi*.

14126. **Shahada, F., Clausen, P-H., Tietjen, U., Chuma, T. et Okamoto, K., 2007.** Absence of correlation between karyotype profiles of *Trypanosoma congolense* and resistance to isometamidium chloride. [Absence de corrélation entre les profils de caryotype de *T. congolense* et une résistance au chlorure d'isométymidium.] *Veterinary Parasitology*. **Sous presse, épreuve corrigée.**

Institute for Parasitology and Tropical Veterinary Medicine, Freie Universität Berlin, Königsweg 67, D-14163 Berlin, Allemagne et Laboratory of Veterinary Public Health, Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Kagoshima University, 1-21-24 Korimoto, Kagoshima 890-0065, Japon. [shahada@ms.kagoshima-u.ac.jp].

Les profils chromosomiques de 10 populations de *Trypanosoma (T.) congolense* avec des sensibilités différentes à l'isométabidium ont été comparés en utilisant la technique de l'électrophorèse de gel sur gradient de champ pulsé. L'objectif était de tirer au clair si il existe un profil de karyotype spécifique aux huit phénotypes résistants à l'isométabidium. Une analyse des profils a indiqué que toutes les populations présentent plusieurs bandes discrètes dans la région de chromosomes de petite taille, de taille intermédiaire et de grande taille. La similarité la plus grande a été observée entre deux isolats provenant du Burkina Faso, ce qui indique qu'ils avaient la même origine génétique. Les huit autres souches présentaient différents modèles en termes de taille et de nombre de chromosomes de telle façon qu'il n'y avait pas de modèle de caryotype caractéristique établi spécifiquement pour identifier les populations résistantes et les distinguer des populations sensibles. La présente étude a révélé que la résistance à l'isométabidium n'est pas liée au profil de caryotype chez *T. congolense*.

(c) CYCLE BIOLOGIQUE, MORPHOLOGIE, ÉTUDES BIOCHIMIQUES ET  
MOLÉCULAIRES

14127. **Adams, E. R., Malele, I. I, Msangi, A. R. et Gibson, W C., 2006.** Trypanosome identification in wild tsetse populations in Tanzania using generic primers to amplify the ribosomal RNA ITS-1 region. [Identification des trypanosomes dans des populations de glossines sauvages en Tanzanie en utilisant des amorces génériques pour amplifier la région ITS-1 de l'ARN ribosomal.] *Acta Tropica*, **100** (1-2): 103-109.

School of Biological Sciences, Université de Bristol, Bristol, R-U.

Les glossines transmettent de nombreuses espèces de trypanosomes en Afrique, dont certaines sont des pathogènes pour les humains et pour le bétail qui ont un impact médical et socioéconomique majeur. Une identification des trypanosomes est essentielle pour évaluer le risque de maladie posé par des populations de glossines particulières. Nous avons mis au point un test d'ACP générique unique pour remplacer les tests d'ACP spécifiques aux espèces multiples utilisés auparavant pour identifier l'espèce de trypanosome dont les glossines étaient porteuses. Dans le test d'ACP générique, une variation de taille entre les espèces dans le produit d'ACP de la région de l'espaceur interne transcrit (ITS-1) de la région de répétition de l'ARN ribosomal permet d'identifier les espèces. Le test a été appliqué pour identifier les trypanosomes dans des échantillons de mésogastre stockés sur des cartes FTA provenant de glossines capturées dans la nature dans deux régions de Tanzanie. Les identifications ont été vérifiées par le séquençage de la région ITS-1 amplifiée et/ou des tests d'ACP spécifiques à l'espèce. La méthode facilitait une identification rapide et précise d'un grand nombre d'échantillons de terrain. Alors que les tests spécifiques aux espèces étaient incapables de reconnaître des espèces inconnues auparavant, le test générique permettait d'identifier une nouvelle espèce grâce à la taille unique du produit amplifié. Ainsi, même sans accès à un isolat de cette nouvelle espèce, nous avons pu recueillir des données sur sa répartition, sa prévalence et sa co-existence avec d'autres trypanosomes. Les profils moléculaires et écologiques combinés devraient faciliter l'isolement et la caractérisation biologique complète de cette espèce dans l'avenir.

14128. **Al-Salabi, M. I., Wallace, L. J., Luscher, A., Maser, P., Candlish, D., Rodenko,**

**B., Gould, M. K., Jabeen, I., Ajith, S. N. et de Koning, H. P., 2007.** Molecular interactions underlying the unusually high adenosine affinity of a novel *Trypanosoma brucei* nucleoside transporter. [Interactions moléculaires sous-jacentes à l'affinité exceptionnellement élevée pour l'adénosine d'un nouveau transporteur nucléosidique de *T. brucei*.] *Molecular Pharmacology*, **71** (3): 921-929.

Institute of Biomedical and Life Sciences, Glasgow Biomedical Research Centre, Université de Glasgow, Glasgow G12 8TA, R-U.

*Trypanosoma brucei* code un nombre relativement élevé de gènes de la famille des transporteurs nucléosidiques équilibratifs (ENT). Nous signalons ici le clonage et la caractérisation approfondie d'un membre d'ENT de *T. brucei brucei*, TbNT9/AT-D. Ce transporteur était exprimé chez *Saccharomyces cerevisiae* et présentait une affinité particulièrement élevée pour l'adénosine ( $K_m = 0,068 \pm 0,013 \mu M$ ) ainsi qu'une sélectivité plus large pour d'autres nucléosides de purine dans la gamme inférieure de  $\mu M$  mais n'était pas inhibé par les nucléobases ni les pyrimidines. Ce profil de sélectivité est compatible avec l'activité de transport P1 observée auparavant dans les formes procycliques et sanguines longues et minces de *T. brucei*, si ce n'est pour l'affinité 40 fois plus élevée pour l'adénosine que pour l'inosine. Nous avons trouvé que comme l'activité P1 des formes sanguines longues et minces des trypanosomes, les groupes fonctionnels 3'-hydroxy, le 5'-hydroxy, N3 et N7 contribuent à la liaison du transporteur. En outre, nous montrons que le groupe amines en position 6 de l'adénosine, mais pas le groupe 6-keto dans l'inosine, contribue de façon majeure à la liaison ( $\Delta G^0 = 12 \text{ kJ/mol}$ ), ce qui explique les différentes valeurs en  $K_m$  des nucléosides de purine. Nous avons en outre trouvé que l'activité P1 chez les trypanosomes procycliques et les trypanosomes longs et minces est distincte du point de vue pharmacologique et nous avons identifié le principal gène codant cette activité dans les cellules procycliques comme étant NT10/AT-B. La présence d'activités multiples de transport nucléosidique de type P1 chez *T. brucei brucei* facilite la mise au point de traitements de la trypanosomose africaine basés sur les nucléosides et retarderait le commencement d'une chimiorésistance à une telle thérapie liée à l'absorption. Nous démontrons que TbNT9/AT-D et NT10/AT-B transportent tous deux une gamme d'analogues des nucléosides potentiellement thérapeutiques.

14129. **Alsford, S., Kawahara, T., Isamah, C. et Horn, D., 2007.** A sirtuin in the African trypanosome is involved in both DNA repair and telomeric gene silencing but is not required for antigenic variation. [Un sirtuin chez le trypanosome africain est impliqué à la fois dans la réparation de l'ADN et la déconnexion du gène dans le télomère mais n'est pas nécessaire à la variation antigénique.] *Molecular Microbiology*, **63** (3): 724-736.

London School of Hygiene and Tropical Medicine, Keppel Street, Londres, WC1E 7HT, R-U.

Les protéines liées au Sir2 ou sirtuins fonctionnent en tant que désacétylase dépendant de  $NAD^+$  ou que ribosylases d'ADP qui ciblent une gamme de substrats, influençant par conséquent la structure de la chromatine et une gamme diverse d'autres fonctions

biologiques. Les gènes codant trois protéines liées à Sir2 (SIR2rp1-3) ont été identifiés chez les trypanosomatides parasitaires, des protozoaires à ramification précoce sans mécanisme de désactivation transcriptionnelle signalé auparavant. Nous montrons ici qu'au stade sanguin pathogène pour les mammifères du trypanosome africain *Trypanosoma brucei*, SIR2rp1 est localisé dans le noyau alors que SIR2rp2 et SIR2rp3 sont tous deux des protéines mitochondriales. La protéine nucléaire, SIR2rp1, contrôle la réparation de l'ADN et la répression de l'expression influencée par la polymérase I de l'ARN immédiatement adjacente aux télomères. Cependant, la variation antigénique, qui implique la déconnexion et le changement transcriptionnel facilité par Pol I des gènes de glycoprotéine variable de surface dans le subtelomère, continue à fonctionner indépendamment de SIR2rp1.

14130. **Babbarwal, V. K., Fleck, M., Ernst, N. L., Schnauffer, A. et Stuart, K., 2007.** An essential role of KREPB4 in RNA editing and structural integrity of the editosome in *Trypanosoma brucei*. [Un rôle essentiel de KREPB4 dans l'édition de l'ARN et l'intégrité structurale de l'éditosome chez *T. brucei*.] *RNA*, **13** (5): 737-744.

Seattle Biomedical Research Institute, Seattle, Washington 98109, E.-U.

L'édition de l'ARN chez le parasite causant la maladie du sommeil, *Trypanosoma brucei*, réorganise les transcriptions mitochondriales en ajoutant et effaçant des uridylyls tel que spécifié par les ARN guides. L'édition est catalysée par trois éditosomes distincts au moins de multiprotéines d'environ 20S, qui contiennent tous KREPB4, une protéine avec une RNase III et des motifs de Pumilio. La répression par l'ARNi de l'expression de KREPB4 dans les formes procycliques (PF) inhibait fortement la croissance et l'édition *in vivo* de l'ARN, diminuait considérablement l'abondance des éditosomes de 20S, réduisait les niveaux cellulaires des protéines des éditosomes et générait des sous-complexes d'éditosomes d'approximativement 5 à 10S. Les activités d'édition de la TUTase, de l'exoUase et de la ligase de l'ARN passaient principalement des fractions d'environ 20S aux fractions d'environ 5 à 10S des lysats cellulaires. Les activités d'endonucléase pour l'insertion et la délétion dans les fractions d'environ 20S étaient fortement réduites lors de la répression de KREPB4 mais n'étaient pas détectées dans la fraction du sous-complexe de 5 à 10S. L'abondance des protéines MRP1 et RBP16, qui semblent être impliquées dans le traitement de l'ARN mais ne sont pas des éléments de l'éditosome de 20S, était inchangée lors de la répression de KREPB4. Ces données suggèrent que KREPB4 est importante pour l'intégrité structurale des éditosomes d'environ 20S, l'activité d'endonucléase pour l'édition et la viabilité des cellules des formes procycliques de *T. brucei*.

14131. **Barnes, R. L. et McCulloch, R., 2007.** *Trypanosoma brucei* homologous recombination is dependent on substrate length and homology, though displays a differential dependence on mismatch repair as substrate length decreases. [La recombinaison homologue de *T. brucei* dépend de la longueur du substrat et de l'homologie mais présente une dépendance différentielle de la réparation des mésappariements avec la diminution de la longueur du substrat.] *Nucleic Acids Research*. **Sous presse, épreuve corrigée.**

The Wellcome Centre for Molecular Parasitology, Université de Glasgow,  
Glasgow Biomedical Research Centre, 120 University Place, Glasgow, G12  
8TA, R-U.

La recombinaison homologue fonctionne universellement pour maintenir la stabilité du génome par le biais de la réparation des cassures de l'ADN et pour assurer l'achèvement de la réplication. Dans certains organismes, la recombinaison homologue peut effectuer des fonctions plus spécifiques, par exemple, dans la variation antigénique, un mécanisme largement conservé pour échapper à l'immunité de l'hôte. *Trypanosoma brucei*, l'agent causant la maladie du sommeil africain, subit une variation antigénique grâce à des changements périodiques de son revêtement en glycoprotéines variables de surface (VSG). Les changements de VSG impliquent l'activation des gènes de VSG, provenant d'une archive silencieuse énorme, par recombinaison dans des sites d'expression spécialisés. Ces réactions impliquent une recombinaison homologue, bien qu'elles soient caractérisées par une vitesse exceptionnelle de changement et par des conditions de substrat atypiques. Nous avons examiné ici les paramètres du substrat de la recombinaison homologue de *T. brucei*. Nous montrons d'abord que la réaction dépend strictement de la longueur du substrat et qu'elle est entravée par des mésappariements de bases, caractéristiques partagées par la recombinaison homologue dans tous les organismes caractérisés. Deuxièmement, nous identifions une voie de recombinaison homologue qui agit de préférence sur les substrats courts et est entravée dans une moindre mesure par les mésappariements de bases et le mécanisme de réparation des mésappariements. Finalement, nous montrons que les mésappariements au cours d'une recombinaison chez *T. brucei* peuvent être réparés par une réparation des mésappariements avec une petite pièce.

14132. **Baron, D. M., Ralston, K. S., Kabututu, Z. P. et Hill, K. L., 2007.** Functional genomics in *Trypanosoma brucei* identifies evolutionarily conserved components of motile flagella. [La génomique fonctionnelle chez *T. brucei* identifie des éléments de flagelle mobile conservés au cours de l'évolution.] *Journal of Cell Science*, **120** (3): 478-491.

Department of Microbiology, Immunology, and Molecular Genetics, Université de Californie, Los Angeles, CA 90095, E.-U.

Les cils et les flagelles sont des organelles complexes hautement conservés qui sont impliqués dans une variété de fonctions importantes. Les flagelles sont nécessaires pour la mobilité de plusieurs pathogènes humains et les anomalies ciliaires entraînent une variété de maladies humaines létales et débilitantes. Un grand nombre des éléments structurels majeurs des cils et des flagelles est connu mais les connaissances sur la régulation du battement flagellaire sont limitées. *Trypanosoma brucei*, l'agent causant la maladie du sommeil africain, fournit un excellent modèle pour étudier la mobilité flagellaire. Nous avons utilisé la génomique comparative pour identifier un groupe central de 50 gènes uniques aux organismes munis de flagelles mobiles. Ces gènes, appelés éléments des flagelles mobiles de *T. brucei* (TbCMF) incluent 30 nouveaux gènes, et des homologues humains d'un grand nombre de gènes TbCMF dressent une carte des loci associés aux maladies ciliaires humaines. Pour caractériser la fonction de la protéine de TbCMF, nous avons utilisé l'interférence de l'ARN pour cibler 41 gènes TbCMF. Les titrages de sédimentation et une



observation directe ont démontré des anomalies claires de la mobilité dans une majorité de ces mutants avec désactivation. Un étiquetage des épitopes, une localisation par la fluorescence et un fractionnement biochimique ont démontré une localisation flagellaire pour plusieurs protéines de TbCMF. Finalement, une analyse ultrastructurale a identifié une famille de nouvelles protéines de TbCMF qui fonctionne pour maintenir les connexions entre les microtubules du doublet extérieur, ce qui suggère qu'ils sont les premiers éléments identifiés de liens de nexine. Dans l'ensemble, nos résultats fournissent des connaissances sur le fonctionnement du flagelle eucaryote, identifient plusieurs nouveaux gènes candidats de maladies humaines, révèlent des aspects uniques du flagelle du trypanosome et mettent en évidence la valeur de *T. brucei* en tant que système expérimental pour étudier la biologie flagellaire.

14133. **Cifuentes-Rojas, C., Pavia, P., Hernandez, A., Osterwisch, D., Puerta, C. et Cruz-Reyes, J., 2007.** Substrate determinants for RNA editing and editing complex interactions at a site for full-round U insertion. [Déterminants du substrat pour l'édition de l'ARN et les interactions du complexe d'édition dans un site pour une insertion du cycle complet d'U.] *Journal of Biological Chemistry*, **282** (7): 4265-4276.

Department of Biochemistry and Biophysics, Texas A & M University, College Station, Texas 77843, E.-U.

Les complexes d'édition de l'ARN dans une multisubunité catalysent l'édition de l'ARN par insertion/délétion d'uridylyls régulée par les ARN guides complémentaires (ARNg). L'édition dans les mitochondries du trypanosome est spécifique à la transcription et contrôlée par le développement mais les mécanismes moléculaires de la spécificité du substrat restent inconnus. Nous avons utilisé ici un substrat minime pré-ARNm/ARNg pour définir les facteurs déterminants fonctionnels pour une insertion du cycle complet et les interactions du complexe d'édition au site d'édition 2 (ES2). L'édition commence avec le clivage du pré-ARNm au sein d'une boucle interne flanquée par des doubles hélices en amont et en aval avec ARNg. Nous avons trouvé que la reconnaissance du substrat autour de la boucle interne est indépendante de la séquence et que les doubles hélices complètement artificiels couvrant un seul tour hélicoïdal sont fonctionnelles. En outre, après notre signalisation d'interactions de réticulation à un ES1 d'insertion (35), nous montrons pour la première fois des contacts du complexe d'édition à un ES d'insertion. Nos études utilisant des substitutions de ribose 2' spécifiques au site définissaient 2'-hydroxyles au sein (a) de la région de la boucle d'ARNg et (b) des hélices de flanquement qui stimulent nettement à la fois le clivage pré-ARNm et les interactions du complexe d'édition au site ES2. La modification de l'hélice en aval affectait la spécificité du lien scissile. Notamment, un seul 2'-hydroxyle au site ES2 est essentiel au clivage mais superflu pour la réticulation du complexe d'édition. La présente étude fournit de nouvelles connaissances sur la reconnaissance du substrat au cours de l'édition du cycle complet, y compris la pertinence d'une structure secondaire et la première association fonctionnelle de riboses spécifiques (pré-ARNm et ARNg) avec à la fois le clivage de l'endonucléase et les activités de réticulation des complexes d'édition à un ES. Ce qui est important, c'est que la plupart des interactions de réticulation observées sont à la fois conservées et relativement stables à un ES2 et un ES1

dans les substrats hybrides. Cependant, elles étaient également détectées en tant que contacts passagers avec une faible stabilité dans une transcription non éditée.

14134. **de Souza Leite, M., Thomaz, R., Fonseca, F. V., Panizzutti, R., Vercesi, A. E. et Meyer-Fernandes, J. R., 2007.** *Trypanosoma brucei brucei*: biochemical characterization of ecto-nucleoside triphosphate diphosphohydrolase activities. [T. b. brucei: caractérisation biochimique des activités de diphosphohydrolase de triphosphate dans les ecto-nucléosides.] *Experimental Parasitology*, **115** (4): 315-323.

Instituto de Bioquímica Médica, CCS, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Cidade Universitária, Rio de Janeiro, RJ, Brésil.

Dans les présents travaux, nous décrivons la capacité de cellules vivantes de *Trypanosoma brucei brucei* à hydrolyser une adénosine triphosphate (ATP) extracellulaire. Chez ces parasites intacts, il y avait un faible niveau d'hydrolyse d'ATP en l'absence de tout métal divalent ( $4,72 \pm 0,51 \text{ nmol Pi} \times 10^{-7} \text{ cellules} \times \text{h}^{-1}$ ). L'hydrolyse d'ATP était stimulée par  $\text{MgCl}_2$  et l'activité d'ecto-ATPase dépendant de Mg était de  $27,15 \pm 2,91 \text{ nmol Pi} \times 10^{-7} \text{ cellules} \times \text{h}^{-1}$ . Cette activité stimulatrice était également observée lorsque  $\text{MgCl}_2$  était remplacé par  $\text{MnCl}_2$ .  $\text{CaCl}_2$  et  $\text{ZnCl}_2$  étaient également capables de stimuler l'activité d'adénosine-triphosphatase (ATPase) bien que moins que  $\text{MgCl}_2$ . La valeur K (m) apparente pour l'ATP était de 0,61 mM. Cette activité d'ecto-ATPase était insensible aux inhibiteurs d'autres activités d'ATPase et de phosphatase. Pour confirmer que cette activité d'ATPase dépendant de Mg est une activité d'ecto-ATPase, nous avons utilisé un inhibiteur imperméable, DIDS (4, 4'-diisothiocyanostylbène 2'-2'-acide disulfonique), ainsi que de la suramine, un antagoniste des purinorécepteurs P(2) et un inhibiteur de certaines ecto-ATPases. Ces deux réactifs inhibaient l'activité d'ATPase dépendant de  $\text{Mg}^{2+}$  d'une façon dépendant de la dose. Les cellules vivantes hydrolysaient séquentiellement la molécule d'ATP générant l'ADP, l'AMP et l'adénosine, et un ajout d'ATP au milieu de culture était capable de soutenir la prolifération de *T. brucei brucei* aussi bien qu'un ajout d'adénosine. En outre, l'activité d'E-NTPDase de *T. brucei brucei* est modulée par la disponibilité de purines dans le milieu de culture. Ces résultats indiquent que cet enzyme de surface peut jouer un rôle dans la récupération des purines provenant du milieu extracellulaire chez *T. brucei brucei*.

14135. **Denninger, V., Figarella, K., Schonfeld, C., Brems, S., Busold, C., Lang, F., Hoheisel, J. et Duzenko, M., 2007.** Troglitazone induces differentiation in *Trypanosoma brucei*. [Le troglitazone induit une différenciation chez *T. brucei*.] *Experimental Cell Research*, **313** (9): 1805-1819.

Interfakultäres Institut für Biochemie, Universität Tübingen, Hoppe-Seyler-Str. 4, D-72076 Tübingen, Allemagne.

*Trypanosoma brucei*, un parasite protozoaire causant la maladie du sommeil, est transmis par la glossine et subit un cycle biologique complexe comprenant plusieurs stades définis au sein de l'insecte vecteur et de son hôte mammifère. Chez ce dernier, la différenciation de la forme longue et mince en une forme courte et trapue est induite par un facteur encore inconnu d'origine trypanosomienne. Nous décrivons ici que certains

thiazolidinéones sont également capables d'induire une différenciation. Dans les eucaryotes supérieurs, les thiazolidinéones sont impliqués dans le métabolisme et les processus de différenciation principalement en se liant aux récepteurs intracellulaires. Nos études se concentrent sur les effets du troglitazone sur les formes sanguines des trypanosomes. La différenciation a été surveillée en utilisant des marqueurs mitochondriaux (potentiel de la membrane, activité de déshydrogénase de succinate, inhibition de l'absorption d'oxygène par KCN, quantité de transcriptions de cytochrome), modifications morphologiques (microscopie électronique conventionnelle et microscopie optique), et des expériences de transformation (perte du revêtement de glycoprotéines variables de surface et accroissement de l'activité de déshydrogénase de dihydroliponamide). Pour étudier davantage les mécanismes responsables de ces changements, des analyses de microréseau ont été effectuées et indiquent une régulation à la hausse d'un gène 8 associé au site d'expression (ESAG8), un régulateur potentiel de la différenciation.

14136. **Folgueira, C. et Requena, J. M., 2007.** A postgenomic view of the heat shock proteins in kinetoplastids. [Examen postgénomique des protéines de choc thermique chez les cinétoplastides.] *FEMS Microbiology Reviews*. **Sous presse, épreuve corrigée.**

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, Espagne.

Les cinétoplastides *Leishmania major*, *Trypanosoma brucei* et *Trypanosoma cruzi* sont les agents qui causent un spectre divers de maladies humaines: la leishmaniose, la maladie du sommeil et la maladie de Chagas, respectivement. Ces protozoaires possèdent des cycles biologiques digénétiques qui impliquent un développement chez les hôtes mammifères et insectes. Il est généralement accepté que la température est un facteur qui déclenche le programme de développement permettant l'adaptation du parasite aux conditions des mammifères. La réaction au choc thermique est un mécanisme homéostatique général qui protège les cellules des effets délétères des stress environnementaux tels que la chaleur. Cette réaction est universelle et inclut la synthèse des protéines de choc thermique (HSP). Dans le présent examen, nous résumons les caractéristiques marquantes des différentes familles d'HSP et décrivons leurs principales fonctions cellulaires. Parallèlement, nous analysons la composition de ces familles chez les cinétoplastides selon les données de la documentation et notre compréhension des données sur la séquence du génome. Les séquences du génome de ces parasites ont été récemment terminées. Les familles d'HSP décrites ici sont: HSP110, HSP104, chaperonines de groupe I, HSP90, HSP70, HSP40 et HSP de petite taille. Ces familles sont toutes largement représentées dans ces parasites. En particulier, les cinétoplastides possèdent un nombre sans précédent de membres des familles HSP70, HSP60 et HSP40, ce qui suggère des rôles-clés pour ces HSP dans leur biologie.

14137. **Galland, N., Demeure, F., Hannaert, V., Verplaetse, E., Vertommen, D., Van der Smissen, P., Courtoy, P. J. et Michels, P. A., 2007.** Characterization of the role of the receptors PEX5 and PEX7 in the import of proteins into glycosomes of *Trypanosoma brucei*. [Caractérisation du rôle des récepteurs PEX5 et PEX7 dans l'importation des protéines dans les glycosomes de *T. brucei*.] *Biochimica and Biophysica Acta*, **1773** (4): 521-535.

Unité de Recherche pour les Maladies tropicales, Institut Christian de Duve de Pathologie cellulaire et Laboratoire de Biochimie, Université catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique.

Les peroxydases 5 et 7 sont des récepteurs pour l'importation de protéines dans la matrice peroxydase. Nous avons étudié l'implication de ces peroxydases dans la biogenèse des glycosomes chez le parasite protozoaire *Trypanosoma brucei*. Les glycosomes sont des organelles de type peroxydase dans lesquelles une majeure partie de la voie glycolytique est enfermée. Nous signalons ici la caractérisation de l'homologue de PEX7 chez *T. brucei* et nous fournissons plusieurs données qui suggèrent fortement qu'il peut se lier à PEX5. Un appauvrissement en PEX5 ou en PEX7 par une interférence de l'ARN a un effet grave sur la croissance à la fois de la forme sanguine du parasite, qui dépend entièrement de la glycolyse pour son approvisionnement en ATP, et la forme procyclique représentative du parasite vivant dans le mésogastre de la glossine et dans laquelle d'autres voies métaboliques jouent également un rôle prédominant. Le rôle de deux récepteurs dans l'importation des protéines de la matrice glycosomale avec différents types de signaux ciblant le peroxydase/glycosome (PTS) a été analysé au moyen d'études de l'immunofluorescence et du fractionnement subcellulaire. La réduction immédiate de l'expression de l'un ou de l'autre gène du récepteur résultait dans les cellules procycliques en la mauvaise localisation des protéines avec un motif de ciblage de type 1 ou 2 (PTS1, PTS2) situées dans les terminaux C et N, respectivement, et des protéines avec un signal interne de séquence (I-PTS) dans le cytosol. Une microscopie électronique a confirmé l'intégrité apparente des glycosomes dans ces cellules procycliques. Dans les formes sanguines des trypanosomes, un appauvrissement en PEX7 semblait affecter uniquement la répartition subcellulaire des protéines PTS2. Un analyse de transfert de type Western suggérait que, dans les deux stades du cycle biologique du trypanosome, les niveaux des deux récepteurs sont contrôlés de façon coordonnée par un mécanisme qui reste à déterminer. L'observation selon laquelle PEX5 et PEX7 sont tous deux essentiels à la viabilité du parasite indique que les ramifications respectives de la voie d'importation dans le glycosome dans lesquelles chaque récepteur agit pourraient être des cibles intéressantes pour les médicaments.

14138. **Gibson, W., 2007.** Resolution of the species problem in African trypanosomes. [Résolution du problème des espèces chez les trypanosomes africains.] *International Journal of Parasitology*, **37** (8-9): 829-838.

School of Biological Sciences, Université de Bristol, Woodland Road, Bristol BS8 1UG, R-U [w.gibson@bris.ac.uk].

Il existe une supposition générale que les espèces d'eucaryotes sont démarquées par des discontinuités morphologiques ou génétiques. Celle-ci découle de l'idée que les espèces sont définies par la capacité des individus à s'accoupler et à produire une progéniture viable. Au niveau microscopique, dans lequel les organismes prolifèrent souvent davantage par reproduction asexuée que reproduction sexuée, ce système de classification méthodique s'effondre et la définition des espèces devient délicate et problématique. La pénurie de caractères morphologiques pour distinguer les espèces microbiennes a conduit à l'application largement répandue des méthodes moléculaires pour l'identification. Non seulement le

séquençage des gènes a fourni des marqueurs moléculaires pour l'identification des espèces mais il a également généré les données pour estimer précisément la parenté entre les différentes populations de microbes. Cela a entraîné la reconnaissance de conflits entre les désignations taxonomiques actuelles et le positionnement phylogénétique. Dans le cas des pathogènes microbiens, la mesure dans laquelle la taxonomie a été régie par des considérations utilitaires plutôt que biologiques a été rendue explicite par une analyse phylogénétique moléculaire. Ces questions sont discutées en ce qui concerne la taxonomie des trypanosomes africains, dans laquelle la pathogénicité, la gamme d'hôtes et la répartition ont eu une influence sur la désignation des espèces et sous-espèces. En réalité, les unités taxonomiques reconnues sont celles qui sont significatives en termes de la maladie humaine ou animale. Les différences génétiques sous-jacentes séparant les taxons de trypanosome actuellement reconnus ne sont pas cohérentes, allant d'une divergence au niveau du génome à la présence/absence d'un gène unique. Néanmoins, si une différence génétique même mineure reflète une adaptation à une niche parasitaire particulière, par exemple, chez *Trypanosoma brucei rhodesiense*, la présence d'un gène unique conférant la capacité d'infecter les humains, elle peut s'avérer utile comme étiquette d'identification pour le taxon qui occupe cette niche. Par conséquent, le problème des espèces peut être résolu en réunissant les considérations d'utilité, de différence génétique et d'adaptation.

14139. **Glover, L., Alsford, S., Beattie, C. et Horn, D., 2007.** Deletion of a trypanosome telomere leads to loss of silencing and progressive loss of terminal DNA in the absence of cell cycle arrest. [La délétion du télomère d'un trypanosome conduit à une perte de la déconnexion et à une perte progressive de l'ADN terminal en l'absence d'un arrêt du cycle cellulaire.] *Nucleic Acids Research*, **35** (3): 872-880.

London School of Hygiene and Tropical Medicine, Keppel Street, Londres, WC1E 7HT, R-U.

Les chromosomes eucaryotes sont coiffés par des télomères qui permettent une réplication complète du chromosome et empêche les extrémités d'être reconnues par le mécanisme de réparation. Le trypanosome africain, *Trypanosoma brucei*, est un parasite protozoaire dans lequel une variation antigénique nécessite la déconnexion réversible d'un dépôt des gènes de glycoprotéines variables de surface (VSG) adjacent au télomère. Nous avons étudié le rôle du télomère voisin d'une VSG réprimée. Dans les cellules manquant de télomérase, la vitesse de perte répétée du télomère semblait inversement proportionnelle à la longueur du télomère. Nous avons, par conséquent, construit des souches dans lesquelles un télomère unique pouvait être enlevé immédiatement par un clivage conditionnel de la méganucléase I-SceI. Suite à la délétion du télomère, les cellules maintenaient et ségrégaient le chromosome endommagé sans le réparer. Ces cellules continuent à proliférer au rythme normal mais perdent progressivement l'ADN terminal à l'extrémité de la cassure. Bien que la répression dépendant du sirtuine soit perdue avec le télomère, la déconnexion des VSG est conservée. Les résultats fournissent un indice direct de la répression dépendant du télomère mais suggèrent un mode de déconnexion des VSG indépendant du télomère. Ils indiquent également l'absence d'un point de vérification de la perte du télomère chez *T. brucei*.

14140. **Goulah, C. C. et Read, L. K., 2007.** Differential effects of arginine methylation on RBP16 mRNA binding, guide RNA (gRNA) binding, and gRNA-containing

ribonucleoprotein complex (gRNP) formation. [Effets différentiels de la méthylation de l'arginine sur la liaison de l'ARNm RBP16, la liaison de l'ARN guide (ARNg) et la formation du complexe de ribonucléoprotéine contenant l'ARNg (RNPg).] *Journal of Biological Chemistry*, **282** (10): 7181-7190.

Department of Microbiology and Immunology and Witebsky Center for Microbial Pathogenesis and Immunology, SUNY Buffalo School of Medicine, Buffalo, New York 14214, E.-U.

L'expression des gènes mitochondriaux de *Trypanosoma brucei* implique la coordination d'évènements multiples, y compris le clivage de la transcription polycistronique, la polyadénylation, la stabilité de l'ARN et l'édition de l'ARN. La méthylation d'arginine des protéines liant l'ARN a le potentiel d'influencer un grand nombre de ces processus par le biais de la régulation des interactions protéine-protéine et protéine-ARN. Nous démontrons ici que la méthylation de l'arginine régule de façon différentielle la capacité de liaison de l'ARN et les interactions macromoléculaires de la protéine régulatrice RBP16 formée par le gène mitochondrial. Nous montrons que, dans les mitochondries de *T. brucei*, RBP16 forme deux complexes majeurs stables: un complexe de multiprotéines de 5 S et un complexe de 11 S consistant en un complexe de 5 S associé à l'ARN guide (ARNg). L'expression d'une protéine mutante RBP16 non méthylable démontre que la méthylation de l'arginine de RBP16 est nécessaire pour maintenir les interactions protéine-protéine requises pour l'assemblage et/ou la stabilité des deux complexes. La régulation à la baisse de la méthyltransférase d'arginine de la protéine majeure des trypanosomes de type 1, *TbPRMT1*, perturbe la formation à la fois des complexes de 5 et de 11 S, ce qui indique que la méthylation catalysée par *TbPRMT1* de RBP16 Arg-78 et Arg-85 est essentielle à la formation du complexe. Nous montrons également que la méthylation Arg réduit la capacité de RBP16 à s'associer avec ARNg. Cependant, il ne s'agit pas d'un effet général sur la liaison de l'ARN à RBP16, puisque la méthylation accroît inversement l'association de la protéine avec ARNm. Par conséquent, la méthylation Arg catalysée par *TbPRMT1* a des effets distincts sur l'association d'ARNg et d'ARNm avec RBP16 et la formation du complexe de ribonucléoprotéine contenant l'ARNg (RNPg).

14141. **Gourguechon S., Savich, J. M. et Wang, C. C., 2007.** The multiple roles of cyclin E1 in controlling cell cycle progression and cellular morphology of *Trypanosoma brucei*. [Rôles multiples de la cycline E1 dans le contrôle de la progression du cycle cellulaire et de la morphologie cellulaire de *T. brucei*.] *Journal of Molecular Biology*, **368** (4): 939-950.

Department of Pharmaceutical Chemistry, Université de Californie, San Francisco, CA 94158-2280, E.-U. [ccwang@cgl.ucsf.edu].

La régulation de la progression du cycle cellulaire eucaryote nécessite une activation et une désactivation séquentielle de kinases dépendant de la cycline. Des expériences précédentes de l'interférence de l'ARN (ARNi) chez *Trypanosoma brucei* ont indiqué que la cycline E1, la kinase liée à cdc2 (CRK)1 et CRK2 sont impliquées dans la régulation de la transition G1/S, alors que la cycline B2 et CRK3 jouent un rôle crucial dans le contrôle du point de vérification G2/M. Pour chercher des interactions potentielles entre les autres cyclines et les

CRK qui pouvaient ne pas avoir été révélées par les titrages d'ARNi, nous avons utilisé le système de deux hybrides de la levure et une analyse de co-immunoprécipitation *in vitro* de glutathione-S-transférase et nous avons observé les interactions entre la cycline E1 et CRK1, CRK2 et CRK3. Les cyclines E1–E4 sont des homologues de la cycline Pho80 de la levure. Mais les titrages de complémentation de la levure indiquaient qu'aucune d'elles ne possède une fonction de type Pho80. Une analyse des désactivations doubles de cycline E1 + CRK1 et de cycline E1 + CRK2 dans la forme procyclique de *T. brucei* a indiqué que les cellules étaient arrêtées de façon plus extensive dans la phase G1 au-delà de l'effet cumulatif des désactivations individuelles. Mais l'incorporation de BrdU n'était entravée significativement que dans les cellules appauvries en cycline E1 + CRK1, alors qu'un pourcentage plus élevé de cellules de désactivation de E1 + CRK2 présentait une morphologie nettement allongée de l'extrémité postérieure. Une désactivation double de cycline E1 et CRK3 arrêtaient les cellules dans la phase G2/M beaucoup plus efficacement qu'un appauvrissement en CRK3 seulement. Ensemble, ces données suggèrent les fonctions multiples de la cycline E1: elle forme un complexe avec CRK1 pour promouvoir la transition de phase G1/S; elle forme un complexe avec CRK2 pour contrôler la morphogénèse postérieure au cours de la transition G1/S; et elle forme un complexe avec CRK3 pour promouvoir le passage par le point de vérification G2/M dans le trypanosome.

14142. **Hammarton, T. C., 2007.** Cell cycle regulation in *Trypanosoma brucei*. [Régulation du cycle cellulaire chez *T. brucei*.] *Molecular and Biochemical Parasitology*, **153** (1): 1-8.

Division of Infection & Immunity and Wellcome Centre for Molecular Parasitology, Université de Glasgow, Biomedical Research Centre, 120 University Place, Glasgow G12 8TA, R-U. [t.hammarton@bio.gla.ac.uk].

La division des cellules est régulée par des voies de transduction du signal compliquées et interconnectées qui coordonnent précisément dans le temps et dans l'espace la série complexe d'événements impliqués dans la réplication et la ségrégation des parties composant la cellule. Chez *Trypanosoma brucei*, un progrès considérable a été réalisé au cours des dernières années dans l'identification des régulateurs moléculaires du cycle cellulaire et dans l'élucidation de leurs fonctions bien que de nombreux régulateurs restent sans doute à identifier et qu'il reste beaucoup à faire pour déterminer les voies de transduction du signal. Cependant, il est clair que la régulation du cycle cellulaire chez *T. brucei* est inhabituelle à bien des égards. Des analyses des orthologues de trypanosome des régulateurs du cycle cellulaire eucaryote conservé ont démontré la divergence de leur fonction dans le parasite et un certain nombre d'autres régulateurs-clés manquent chez *T. brucei*. La régulation du cycle cellulaire diffère dans les différents stades du cycle biologique du parasite et *T. brucei* semble utiliser des stratégies différentes de contrôle du point de vérification par rapport aux eucaryotes modèles. Il est, par conséquent, probable que *T. brucei* a développé de nouvelles voies pour contrôler son cycle cellulaire.

14143. **Hee Lee, S., Stephens, J. L. et Englund, P. T., 2007.** A fatty-acid synthesis mechanism specialized for parasitism. [Un mécanisme de synthèse des acides gras spécialisé pour le parasitisme.] *Nature Reviews, Microbiology*, **5** (4): 287-297.

Department of Biological Chemistry, Johns Hopkins School of Medicine, 725 North Wolfe Street, Baltimore, Maryland 21205, E.-U.

La plupart des cellules utilisent soit une synthase de type I ou de type II pour fabriquer des acides gras. *Trypanosoma brucei*, le parasite de la maladie du sommeil, fournit le premier exemple d'un troisième mécanisme pour ce processus. Les trypanosomes utilisent des élongases microsomaux pour synthétiser les acides gras *de novo*, alors que les autres cellules utilisent des élongases pour allonger davantage les acides gras à longue chaîne. La nature modulaire de la voie permet la synthèse des différents produits finis des acides gras, qui ont des rôles importants dans la biologie du trypanosome. En fait, ce mécanisme récemment découvert semble convenir de façon idéale au style de vie du parasite.

14144. **Kang, X., Gao, G., Rogers, K., Falick, A. M., Zhou, S. et Simpson, L., 2006.** Reconstitution of full-round uridine-deletion RNA editing with three recombinant proteins. [Reconstitution de l'édition de l'ARN avec délétion du cycle complet de l'uridine au moyen de trois protéines recombinantes.] *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **103** (38): 13944-13949.

Department of Microbiology, Immunology, and Molecular Genetics, Université de Californie, Los Angeles, CA 90095, E.-U.

L'édition de l'ARN avec insertion/délétion de l'uridine dans les mitochondries du trypanosome implique un clivage initial de l'ARNm préédité à des sites spécifiques déterminés par l'anneau des ARN guides partiellement complémentaires. Une implication de deux protéines du complexe central d'édition (complexe L) contenant RNase III, MP90 (KREPB1) et MP61 (KREPB3) dans l'édition par la délétion d'U et l'insertion d'U, respectivement, a été suggérée mais ces enzymes putatifs n'ont pas été caractérisés ni exprimés sous une forme active. Les protéines recombinantes MP90 de *Trypanosoma brucei* et de *Leishmania major* ont été exprimées dans les cellules d'insecte et dans le cytosol de *Leishmania tarentolae*, respectivement. Ces protéines étaient actives spécifiquement dans le clivage d'un site modèle de délétion d'U et non dans un site d'insertion d'U. La délétion ou la mutation du motif de RNase III annulait cette activité. Une édition du cycle complet par délétion d'U *in vitro* facilitée par l'ARN guide (ARNg) a été reconstituée par un mélange de MP90 recombinante et d'une exonucléase I de *L. major* éditant l'ARN recombinant ainsi que d'une ligase 1 d'ARN de *L. tarentolae* éditant l'ARN recombinant. MP90 est appelée REN1, pour la nucléase 1 d'édition de l'ARN.

14145. **Law, J. A., O'Hearn, S. et Sollner-Webb, B., 2007.** In *Trypanosoma brucei* RNA editing, TbMP18 (band VII) is critical for editosome integrity and for both insertional and deletional cleavages. [Dans l'édition de l'ARN de *T. brucei*, TbMP18 (bande VII) est essentielle à l'intégrité de l'éditosome et à la fois pour les clivages d'insertion et de délétion.] *Molecular and Cellular Biology*, **27** (2): 777-787.

Department of Biological Chemistry, Johns Hopkins University School of Medicine, 725 North Wolfe Street, Baltimore, MD 21205, E.-U.



Dans l'édition de l'ARN du trypanosome, des résidus d'uridylat (U) sont insérés et délétés dans de nombreux sites au sein des pré-ARNm mitochondriaux par un complexe de protéines de 20S environ qui catalyse les cycles de clivage, l'ajout/le retrait d'U et la ligature. Nous avons utilisé l'interférence de l'ARN pour appauvrir *TbMP18* (bande VII), la dernière protéine majeure non examinée de notre complexe d'édition purifié, montrant qu'elle est essentielle. *TbMP18* est essentielle pour les clivages de délétion et d'insertion de U et pour l'intégrité du complexe d'édition de 20S environ dont les autres éléments majeurs, *TbMP99*, *TbMP81*, *TbMP63*, *TbMP52*, *TbMP48*, *TbMP42* (bandes I à VI), et *TbMP57*, se déposent plutôt sous forme d'associations de 10S environ. En outre, *TbMP18* accroît la reconnaissance du substrat d'édition par la transférase terminale d'U de *TbMP57*, facilitant peut-être l'élément de reconnaissance *TbMP81*. Les autres activités d'édition et leur coordination dans l'édition clivée au préalable restent actives en l'absence de *TbMP18*. Ces données rappellent les données sur les sous-complexes d'édition signalées par A. Schnauffer *et al.* (*Mol. Cell* **12**: 307-319, 2003) et suggèrent que ces sous-complexes sont gardés ensemble dans le complexe de 20S environ par *TbMP18*, comme cela a été suggéré auparavant. Nos données impliquent en outre que les protéines vivent moins longtemps dans ces sous-complexes que dans le complexe d'édition complet. Les clivages endonucléolytiques d'édition étant perdus lorsque le complexe d'édition devient fragmenté, comme lors de l'appauvrissement en *TbMP18*, devraient être avantageux pour le trypanosome, en minimisant les ARNm cassés.

14146. **Laxman, S., Riechers, A., Sadilek, M., Schwede, F. et Beavo, J. A., 2006.** Hydrolysis products of cAMP analogues cause transformation of *Trypanosoma brucei* from slender to stumpy-like forms. [Les produits de l'hydrolyse des analogues de cAMP causent une transformation des formes minces aux formes trapues de *T. brucei*.] *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **103** (50): 19194-19199.

Department of Pharmacology, Division of Allergy and Infectious Diseases,  
Université de Washington, Seattle, WA 98195, E.-U.

La maladie du sommeil africaine est une maladie causée par *Trypanosoma brucei*. *T. brucei* prolifère rapidement dans la circulation du sang des mammifères sous forme de formes longues et minces mais, à une densité de population plus élevée, celles-ci se transforment en formes courtes et trapues ne se divisant pas. On pense que ce mécanisme est adopté par *T. brucei* pour établir un rapport stable entre l'hôte et le parasite et pour permettre une transition au stade de l'insecte de son cycle biologique. Des études précédentes ont suggéré un rôle pour cAMP dans la facilitation de cette transformation. Dans la présente étude, en utilisant des analogues de nucléotide à membrane perméable, nous avons montré que ce ne sont pas les analogues de cAMP eux-mêmes mais plutôt les produits hydrolysés des analogues de cAMP à membrane perméable qui empêchent la prolifération de *T. brucei*. Les produits métaboliques sont plus puissants que les analogues de cAMP et les analogues de cAMP résistant à l'hydrolyse ne sont pas antiprolifératifs. Nous montrons en outre que l'effet antiprolifératif de ces analogues d'adénosine à membrane perméable est causé par la transformation en des formes ressemblant aux formes sanguines courtes et trapues. Ces données suggèrent que la transformation des formes minces aux formes trapues de *T. brucei* peut ne pas être facilitée directement par cAMP et soulèvent également la possibilité d'utiliser de tels analogues d'adénosine sous forme de médicaments antitrypanosomiens.

14147. **Lecordier, L., Devaux, S., Uzureau, P., Dierick, J. F., Walgraffe, D., Poelvoorde, P., Pays, E. et Vanhamme, L., 2007.** Characterization of a TFIIH homologue from *Trypanosoma brucei*. [Caractérisation d'un homologue TFIIH provenant de *T. brucei*.] *Molecular Microbiology*, **64** (5): 1164-1181.

Laboratoire de Parasitologie moléculaire, Institut de Biologie moléculaire et de Médecine, Université Libre de Bruxelles, 12, rue des Professeurs Jeener et Brachet, B-6041 Gosselies, Belgique.

Les trypanosomes sont des protozoaires qui présentent des caractéristiques de transcription uniques. Nous décrivons chez *Trypanosoma brucei* un complexe homologue à TFIIH, un facteur de transcription de multisubunité impliqué dans le contrôle de la transcription par ARN Pol I et ARN Pol II, mais également dans la réparation de l'ADN et le contrôle du cycle cellulaire. Les analyses bioinformatiques ont permis de détecter cinq gènes codant quatre sous-unités centrales putatives de TFIIH (*TbXPD*, *TbXPB*, *Tbp44*, *Tbp52*), y compris une nouvelle variante de XPB, *TbXPBz*. Dans tous les cas, les séquences connues pour leur importance pour les fonctions de TFIIH étaient conservées. Nous avons effectué une analyse moléculaire de ce complexe central, en nous concentrant sur les deux sous-unités dotées d'une activité enzymatique connue (hélicase), XPD and XPB. L'implication de ces protéines de *T. brucei* dans un complexe central TFIIH *bona fide* a été corroboré par (i) une colocalisation par immunofluorescence dans le noyau, (ii) une interaction physique directe de *TbXPD* et de sa subunité régulatrice d'interaction *Tbp44* telle que déterminée par un essai double hybride et une purification en tandem par affinité du TFIIH central, (iii) une implication des protéines centrales dans un complexe à masse moléculaire élevée et (iv) l'existence de phénotypes de transcription, de cycle cellulaire et de réparation de l'ADN soit lors de la réduction immédiate de l'ARNi, soit lors de la surexpression des sous-unités essentielles.

14148. **Marcello, L. et Barry, J. D., 2007.** From silent genes to noisy populations -dialogue between the genotype and phenotypes of antigenic variation. [De gènes silencieux à des populations bruyantes – dialogue entre le génotype et les phénotypes d'une variation antigénique.] *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **54** (1): 14-17.

Wellcome Centre for Molecular Parasitology, Université de Glasgow, Glasgow Biomedical Research Centre, 120 University Place, Glasgow G12 8TA, R-U.

Les trypanosomes africains échappent à l'immunité humorale par le biais d'une variation antigénique au cours de laquelle ils changent l'expression du gène des glycoprotéines variables de surface (VSG) codant leur revêtement de surface en glycoprotéines. Le changement procède par la duplication d'une banque de gènes silencieux de VSG en un locus actif du point de vue de la transcription et un précédent suggère que les gènes silencieux peuvent contribuer de façon combinatoire à la formation de gènes fonctionnels exprimés par le biais d'une conversion segmentale des gènes. Le projet sur le génome a révélé que la plupart de la banque de gènes silencieux consiste en des centaines de gènes de VSG dans des matrices subtelomériques en tandem et que la plupart de ceux-ci ne sont pas des gènes fonctionnels. L'objectif du présent examen est d'explorer les liens entre le

génotype du trypanosome découvert et le phénotype de la variation antigénique, s'étendant de la transmission large du phénotype sur le terrain et du dérobage à l'immunité du troupeau à des événements dans des infections simples. Souligner en particulier l'impact possible de la sélection du phénotype sur l'évolution de la banque de VSG et les mécanismes de son expression conduit à un cadre de travail théorique pour mieux comprendre cette stratégie complexe de dérobage au système immunitaire.

14149. **Martinez-Oyanedel, J., McNae, I. W., Nowicki, M. W., Keillor, J. W., Michels, P. A., Fothergill-Gilmore, L. A. et Walkinshaw, M. D., 2007.** The first crystal structure of phosphofructokinase from a eukaryote: *Trypanosoma brucei*. [La première structure cristalline de la phosphofructokinase d'un eucaryote: *T. brucei*.] *Journal of Molecular Biology*, **366** (4): 1185-1198.

Structural Biochemistry Group, Institute of Structural and Molecular Biology, Université d'Édimbourg, King's Buildings, Édimbourg EH9 3JR, R-U.

La structure cristalline de la phosphofructokinase (PFK) dépendant de l'adénosine triphosphate (ATP) de *Trypanosoma brucei* fournit la première description approfondie d'une PFK eucaryote et permet de faire des comparaisons avec les structures cristallines des PFK bactériennes dépendant d'ATP et de PPi. La structure révèle que les deux insertions (les boucles 17 à 20 et 329 à 348), qui sont caractéristiques des PFK des trypanosomatides mais absentes des PFK bactériennes et mammifères dépendant de l'ATP, sont localisées dans et près du site actif et sont dans des positions leur permettant de jouer des rôles importants dans le mécanisme de l'enzyme. L'extension du terminal N de 90 résidus forme un nouveau domaine qui inclut un «bras» traversant la limite de la sous-unité jusqu'à une sous-unité liée par symétrie dans l'enzyme tétramérique. Des comparaisons avec la PFK dépendant de PPi de *Borrelia burgdorferi* indiquent que plusieurs traits jugés caractéristiques des PFK dépendant de PPi sont présents dans la PFK du trypanosome dépendant de l'ATP. Ces deux enzymes sont généralement plus similaires l'un à l'autre qu'aux PFK bactériennes ou mammifères dépendant de l'ATP. Cependant il existe des différences cruciales au site actif des PFK dépendant de PPi qui sont suffisantes pour empêcher la liaison de l'ATP. Cette structure cristalline d'une PFK eucaryote nous a permis de proposer un modèle détaillé de la PFK du muscle humain qui indique le site actif et d'autres différences qui offrent des occasions de découverte de médicaments basée sur la structure pour le traitement de la maladie du sommeil et d'autres maladies causées par la famille des trypanosomatides des parasites protozoaires.

14150. **Morrison L. J., McCormack, G., Sweeney L., Likeufack, A. C., Truc, P., Turner, C. M., Tait, A. et Macleod, A., 2007.** Use of multiple displacement amplification to increase the detection and genotyping of *Trypanosoma* species samples immobilized on FTA filters. [Utilisation d'une amplification par déplacement multiple pour accroître la détection et le génotypage d'échantillons d'espèces de *Trypanosoma* fixés sur du papier filtre FTA.] *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **76** (6): 1132-1137.

Wellcome Centre for Molecular Parasitology, Université de Glasgow, Glasgow, R-U.; Institut de Recherche pour le Développement, UR 177 Trypanosomoses

Africaines, Montpellier, France; Institut de Recherche pour le Développement, UR 177 Trypanosomoses Africaines, Luanda, Angola et Institute of Biomedical and Life Sciences, Université de Glasgow, Glasgow, R-U.

Les méthodes d'amplification du génome entier sont un outil récemment mis au point pour amplifier l'ADN à partir d'un modèle limité. Nous signalons son application dans les infections trypanosomiennes caractérisées par des parasitémiées faibles. Une amplification par déplacement multiple (MDA) amplifie l'ADN avec une étape simple *in vitro* et a été évaluée sur des échantillons de sang de souris sur du papier filtre FTA avec un nombre connu de parasites *Trypanosoma brucei*. Les données indiquaient un accroissement de vingt-fois du nombre d'ACP possibles par échantillon, utilisant des amorces diagnostics pour la région ITS ribosomale à multicopie ou les répétitions 177-bp et un accroissement de 20 fois de la sensibilité par rapport à une ACP à emboîtements contre un microsatellite à exemplaire unique. L'utilisation d'une MDA pour le génotypage du microsatellite causait la perte d'un allèle à des concentrations faibles d'ADN, qui était surmontée par le regroupement des réactions multiples de MDA. La validité de l'utilisation de la MDA a été établie avec des échantillons provenant de patients atteints de trypanosomose humaine africaine. Utiliser la MDA permet une utilisation maximale d'échantillons d'ADN limités et peut s'avérer un outil précieux dans les études où des réactions multiples sont nécessaires telles que les analyses de la génétique d'une population.

14151. **Navarro, M., Peñate, X. et Landeira, D., 2007.** Nuclear architecture underlying gene expression in *Trypanosoma brucei*. [Architecture nucléaire sous-jacente à l'expression du gène chez *T. brucei*.] *Trends in Microbiology*, **15** (6): 263-270.

Instituto de Parasitología y Biomedicina López-Neyra, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Avda. del Conocimiento s/n, 18100 Granada, Espagne. [miguel.navarro@ipb.csic.es].

L'influence de l'architecture nucléaire sur la régulation de l'expression du gène du développement est devenue évidente récemment dans de nombreux organismes allant de la levure aux humains. Au cours de l'interphase, les chromosomes et les structures nucléaires sont en mouvement constant; par conséquent, une association temporelle correcte est nécessaire pour répondre aux besoins de l'expression du gène. *Trypanosoma brucei* est un système de modèle excellent dans lequel analyser les implications nucléaires spatiales dans la régulation de l'expression du gène parce que les deux principaux gènes de protéines de surface (procycline et VSG) sont transcrits par la polymérase I de l'ARN très compartimentalisée et subissent une activation transcriptionnelle ou une régulation à la baisse distincte au cours de la différenciation développementale. En outre, la forme sanguine infectieuse du parasite subit une variation antigénique, présentant des types séquentiellement différents de VSG par exclusion allélique. Nous discutons ici des progrès récents dans la compréhension du rôle du positionnement nucléaire chromosomique dans la régulation de l'expression du gène chez *T. brucei*.

14152. **Nowicki, C. et Cazzulo, J. J., 2007.** Aromatic amino acid catabolism in trypanosomatids. [Catabolisme des acides aminés aromatiques chez les trypanosomatides.] *Comparative Biochemistry and Physiology*. **Sous presse**,

**épreuve corrigée.**

IQUIFIB/Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junin 956, CP1113, Argentine.

Les trypanosomatides causent des maladies importantes pour les humains comme la maladie du sommeil, la maladie de Chagas et les leishmanioses. Contrairement à la situation chez l'hôte mammifère, le métabolisme des acides aminés aromatiques est une voie très simple chez ces parasites. *Trypanosoma brucei* et *Trypanosoma cruzi* transaminent les trois acides aminés aromatiques, les 2-oxoacides en résultant étant réduits aux dérivés de lactate correspondants et excrétés. Chez *T. cruzi*, deux enzymes sont engagés dans ce processus: une aminotransférase de tyrosine (TAT), qui malgré une similarité de séquence élevée avec l'enzyme des mammifères, a une spécificité de substrat différente; et une L-2-hydroxyacide déshydrogénase aromatique (AHADH), qui appartient à la sous-famille de malate déshydrogénases cytosoliques (MDH), et pourtant n'a pas d'activité de MDH. Dans l'AHADH de *T. cruzi*, la substitution d'Ala102 pour Arg permet à l'AHADH de réduire l'oxaloacétate. Chez les membres de la famille des 2-hydroxyacide déshydrogénases, on sait que le résidu à cette position est responsable de la spécificité du substrat. *T. cruzi* ne possède pas de MDH cytosolique mais contient une MDH mitochondriale et une MDH glycosomale; par contre, *T. brucei* et *Leishmania* spp. possèdent une MDH cytosolique en plus des isoformes glycosomales et mitochondriales. Bien que *Leishmania mexicana* transamine également des acides aminés aromatiques par le biais d'une aminotransférase à spécificité large, cette dernière présente une faible similarité de séquence avec les TAT et ce parasite ne semble pas avoir un enzyme équivalant à l'AHADH de *T. cruzi*. Par conséquent, ces eucaryotes primitifs étroitement apparentés ont développé des systèmes de catabolisme des acides aminés aromatiques utilisant différents enzymes et probablement à différentes fins métaboliques.

14153. **Oberholzer, M., Marti, G., Baresic, M., Kunz, S., Hemphill, A. et Seebeck, T., 2007.** The *Trypanosoma brucei* cAMP phosphodiesterases *TbrPDEB1* and *TbrPDEB2*: flagellar enzymes that are essential for parasite virulence. [Les phosphodiesterases cAMP de *T. brucei* *TbrPDEB1* et *TbrPDEB2*: des enzymes flagellaires essentiels à la virulence du parasite.] *FASEB Journal*, **21** (3): 720-731.

Institut de Biologie cellulaire, Université de Berne, Suisse.

Les phosphodiesterases cycliques spécifiques au nucléotide (PDE) sont des régulateurs cruciaux de la signalisation cellulaire. Elles sont également des cibles importantes pour les médicaments. Outre leur activité catalytique et la spécificité pour le substrat, leur localisation subcellulaire et leur interaction avec d'autres éléments des cellules sont également importantes du point de vue fonctionnel. Contrairement aux PDE des mammifères, la signification des PDE chez les protozoaires pathogènes reste en grande partie inconnue. Le génome de *Trypanosoma brucei*, l'agent causant la maladie du sommeil, code cinq PDE différentes. Deux d'entre elles, *TbrPDEB1* et *TbrPDEB2*, sont des PDE très similaires, spécifiques à cAMP contenant deux domaines GAF dans leurs régions du terminal N. Malgré leur similarité, ces deux PDE présentent des localisations subcellulaires différentes. *TbrPDEB1* est situé dans le flagelle, tandis que *TbrPDEB2* est réparti entre le flagelle et le

cytoplasme. Un ARNi contre les deux ARNm a révélé que les deux enzymes peuvent se compléter mais qu'une ablation simultanée des deux entraîne la mort des cellules dans les formes sanguines des trypanosomes. Un ARNi contre *TbrPDEB1* et *TbrPDEB2* fonctionne également *in vivo* où il prévient complètement l'infection et élimine les infections en cours. Nos données démontrent que *TbrPDEB1* et *TbrPDEB2* sont essentiels pour la virulence, ce qui en fait des cibles potentielles précieuses pour de nouveaux médicaments trypanocides basés sur un inhibiteur de PDE. En outre, ils sont compatibles avec la notion que le flagelle de *T. brucei* est un site important de signalisation de cAMP.

14154. **Ochsenreiter, T. et Hajduk, S. L., 2006.** Alternative editing of cytochrome c oxidase III mRNA in trypanosome mitochondria generates protein diversity. [L'édition alternative de l'ARNm de l'oxydase III du cytochrome c dans les mitochondries du trypanosome génère une diversité de protéines.] *EMBO Reports*, **7** (11): 1128-1133.

Program in Global Infectious Diseases, Josephine Bay Paul Center, Marine Biological Laboratory, 7 MBL Street, Woods Hole, Massachusetts 02543, E.-U.

Les trypanosomes utilisent l'édition de l'ARN pour produire la plupart d'un ARN messager très fonctionnel dans les mitochondries. Une insertion et une délétion précise de centaines d'uridines est nécessaire pour fabriquer une pleine longueur d'un ARNm de l'oxydase III (COXIII) du cytochrome c. Nous montrons que l'ARNm de COXIII peut être édité de façon alternative par un mécanisme utilisant un ARN guide alternatif pour fabriquer un ARNm stable. Cet ARNm édité de façon alternative est traduit pour produire une protéine unique qui se fractionne avec les membranes mitochondriales et est colocalisée avec les protéines mitochondriales *in situ*. L'édition alternative de l'ARN représente un mécanisme inconnu auparavant qui génère une diversité de protéines et, en tant que tel, représente une fonction importante pour l'édition de l'ARN.

14155. **Ott, R., Chibale, K., Anderson, S., Chipeleme, A., Chaudhuri, M., Guerrah, A., Colowick, N. et Hill, G. C., 2006.** Novel inhibitors of the trypanosome alternative oxidase inhibit *Trypanosoma brucei* growth and respiration. [De nouveaux inhibiteurs de l'oxydase alternative du trypanosome inhibent la croissance et la respiration de *T. b. brucei*.] *Acta Tropica*, **100** (3): 172-184.

Vanderbilt University School of Medicine, Department of Microbiology and Immunology, Nashville, TN 37232, E.-U.

La trypanosomose africaine est une maladie létale pour laquelle peu d'options chimiothérapeutiques existent. Les agents qui la causent, *Trypanosoma brucei rhodesiense* et *T. b. gambiense*, utilisent une oxydase alternative non cytochrome (AOX) pour leur respiration cellulaire. L'absence de cet enzyme dans les cellules de mammifères en fait une cible logique pour les agents thérapeutiques. Nous avons conçu trois nouveaux composés, ACB41, ACD15 et ACD16 et nous avons étudié leurs effets sur l'activité enzymatique de l'oxydase alternative du trypanosome (TAO), la respiration du parasite et la croissance du parasite *in vitro*. Ces trois composés contiennent tous un fragment d'acide 2-hydroxybenzoïque, analogue à celui présent dans SHAM, et une chaîne latérale de prényl

similaire à celle trouvée dans l'ubiquinol. ACD15 et ACD16 sont encore différenciés par la présence d'un fragment d'hydrate de carbone renforçant la solubilité. Des études cinétiques avec une TAO purifiée indiquent que les trois composés inhibent tous la TAO de façon compétitive et que deux composés, ACB41 et ACD15, ont des constantes d'inhibition cinq et trois fois plus puissantes que SHAM, respectivement. Les trois composés inhibaient tous la respiration et la croissance des cellules sanguines de *T. b. brucei* cultivées de façon continue d'une façon liée à la dose. Aucun des composés n'interférait avec la respiration des mitochondries du foie du rat et n'inhibait la croissance d'une lignée de cellules de mammifères cultivée de façon continue. Ensemble, les résultats suggèrent que nous avons identifié une nouvelle catégorie de composés qui sont des inhibiteurs de TAO, ont des propriétés trypanocides *in vitro*, et méritent des recherches ultérieures *in vivo*.

14156. **Persson, L., 2007.** Ornithine decarboxylase and S-adenosylmethionine decarboxylase in trypanosomatids. [Décarboxylase de l'ornithine et décarboxylase de S-adenosylméthionine chez les trypanosomatides.] *Biochemical Society Transactions*, **35** (2): 314-317.

Department of Experimental Medical Science, Université de Lund, BMC F:13, S-221 84 Lund, Suède. [lo.persson@med.lu.se].

Il a été démontré que la production de polyamines est une cible efficace pour un médicament contre la forme ouest-africaine de la maladie du sommeil causée par *Trypanosoma brucei gambiense*. *T. brucei* appartient au groupe des parasites protozoaires de la catégorie des trypanosomatides. Les espèces parasitaires de ce groupe sont des agents causant diverses maladies tropicales en plus de la maladie du sommeil, par ex. la maladie de Chagas (*Trypanosoma cruzi*), la leishmaniose cutanée (*Leishmania* spp.) et viscérale (*Leishmania donovani*). Le métabolisme des polyamines chez les parasites est une cible potentielle pour le développement de nouveaux médicaments pour le traitement de ces maladies. Les étapes-clés de la synthèse de polyamines sont catalysées par la décarboxylase d'ornithine (ODC) et la décarboxylase de S-adenosylméthionine (AdoMetDC). Dans la présente communication, certaines des informations disponibles sur l'ODC et l'AdoMetDC chez les trypanosomatides seront décrites et discutées.

14157. **Richmond, G. S. et Smith, T. K., 2007.** A novel phospholipase from *Trypanosoma brucei*. [Nouvelle phospholipase de *T. brucei*.] *Molecular Microbiology*, **63** (4): 1078-1095.

Wellcome Trust Biocentre, Division of Biological Chemistry and Molecular Microbiology, College of Life Sciences, Université de Dundee, Écosse, R-U.

Des activités de phospholipase A (1) ont été détectées dans la plupart des cellules où elles ont été recherchées et pourtant leur caractérisation est très en retard sur celle des phospholipases A(2), C et D. L'étude présentée ici décrit en détail le premier clonage et la caractérisation d'une PLA (1) cytosolique qui présente une préférence pour les substrats de phosphatidylcholine (GPCho). La phospholipase A (1) de *Trypanosoma brucei* (TbPLA(1)) est unique par rapport à la PLA(1) eucaryote identifiée auparavant car elle est apparentée du point de vue de l'évolution à une PLA (1) bactérienne sécrétée. Un ancêtre de *T. brucei* a

probablement acquis la PLA (1) d'un transfert horizontal de gène d'une PLA (1) de *Sodalis glossinidius*, un endosymbiote bactérien des glossines. Une analyse d'ionisation par nanoélectrospray en tandem avec une spectrométrie de masse des mutants de *TbPLA* (1) a établi que les fonctions des enzymes *in vivo* pour synthétiser les métabolites lysoGPCo contenant des acides gras à longue chaîne en grande partie polyinsaturés et fortement insaturés. Une analyse des formes recombinantes mutées purifiées de *TbPLA* (1) a révélé que cet enzyme est une hydrolase de sérine dont le mécanisme catalytique implique une triade consistant dans les résidus d'acides aminés Ser-131, His-234 et Asp-183. Les mutants nuls homozygotes de *TbPLA* (1) générés ici constituent la seule désactivation de deux gènes de PLA (1) provenant d'un organisme.

14158. **Schlecker, T., Comini, M. A., Melchers, J., Ruppert, T. et Krauth-Siegel, R. L., 2007.** Catalytic mechanism of the glutathione peroxidase-type trypanredoxin peroxidase of *Trypanosoma brucei*. [Mécanisme catalytique de la peroxydase de trypanredoxine de type peroxydase de glutathione de *T. brucei*.] *Biochemical Journal*. **Sous presse, épreuve corrigée.**

Biochemie-Zentrum der Universität Heidelberg, Allemagne.

*Trypanosoma brucei*, l'agent responsable de la maladie du sommeil, code trois gènes pratiquement identiques pour les homologues de la cystéine des peroxydases de glutathione contenant de la sélénocystéine. Les enzymes, qui sont essentiels pour les parasites, sont dépourvus d'activité de peroxydase de glutathione mais catalysent la réduction des hydroperoxydes dépendant du trypanothione/trypanredoxine. Cys-47, Gln-82 et Trp-137 correspondent à la triade catalytique SeCys, Gln, et Trp des sélénoenzymes des mammifères. Une mutagenèse ciblée sur le site a révélé que Cys-47 et Gln-82 sont essentiels. Un mutant de glycine de Trp-137 avait une activité de type sauvage de 13 pour cent qui suggère que le résidu aromatique peut jouer un rôle structurel mais n'est pas directement impliqué dans la catalyse. Cys-95, conservé dans les protéines apparentées de la levure et des végétaux mais pas dans les sélénoenzymes des mammifères, s'avérerait essentiel également. Par contre, le remplacement de Cys-76 hautement conservé par une sérine résultait en une espèce d'enzyme pleinement active et son rôle reste à découvrir. Thr-50, proposé pour stabiliser l'anion de thiolate à Cys-47, n'est pas non plus essentiel à la catalyse. Un traitement de C76S/C95S mais pas du mutant double C47S/C76S avec H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induisait la formation d'un acide sulphinique et d'homodimères covalents en accord avec le fait que Cys-47 est le site peroxydatif actif, le thiol. Dans la peroxydase de type sauvage, ces oxydations sont empêchées par la formation d'un pont de bisulfure intramoléculaire entre Cys-47 et Cys-95. Comme indiqué par la spectrométrie de masse, la régénération de l'enzyme réduit par la trypanredoxine implique une bisulfure transitoire mixte entre Cys-95 de la peroxydase et Cys-40 de la trypanredoxine. Le mécanisme catalytique de la peroxydase de trypanredoxine ressemble à celui des 2-Cys-peroxyredoxines atypiques mais est distinct de celui des sélénoenzymes.

14159. **Scory, S., Stierhof, Y. D., Caffrey, C. R. et Steverding, D., 2007.** The cysteine proteinase inhibitor Z-Phe-Ala-CHN2 alters cell morphology and cell division activity of *Trypanosoma brucei* bloodstream forms *in vivo*. [L'inhibiteur de la protéinase de cystéine Z-Phe-Ala-CHN2 altère l'activité de morphologie cellulaire



et de division cellulaire des formes sanguines de *T. brucei* in vivo.] *Kinetoplastid Biology and Disease*, 6: 2.

Abteilung Parasitologie, Hygiene-Institut der Ruprecht Karls-Universität, Im Neuenheimer Feld 324, 69120 Heidelberg, Allemagne. [dsteverding@hotmail.com].

La chimiothérapie actuelle de la trypanosomose humaine africaine, ou maladie du sommeil, repose sur des médicaments développés il y a des décennies, dont certains ont des effets secondaires toxiques. Une ligne de recherche prometteuse sur la voie du développement de nouveaux médicaments antitrypanosomiens sont les inhibiteurs à petites molécules des protéinases de cystéine de *Trypanosoma brucei*. Dans la présente étude, nous démontrons que le traitement de souris infectées à *T. brucei* avec l'inhibiteur, le carbobenzoxy-phénylalanyle-alanine-diazométhyle kétone (Z-Phe-Ala-CHN<sub>2</sub>), altère la morphologie du parasite et inhibe la division des cellules. Suite à une administration intrapéritonéale quotidienne de 250 mg kg<sup>-1</sup> de Z-Phe-Ala-CHN<sub>2</sub> les jours 3 et 4 après l'infection (p.i.), des formes trapues avec des lysosomes élargis étaient évidentes le jour 5 p.i. En outre, la teneur en protéine des trypanosomes exposés à l'inhibiteur était 65 pour cent plus élevée que ceux des souris témoins. Également, contrairement au taux normal de parasites contenant deux cinétoplastes (16 pour cent) – une caractéristique de mitose active, 4 pour cent seulement des trypanosomes exposés à l'inhibiteur étaient en train de se diviser activement, ce qui indique un arrêt du cycle cellulaire. Nous suggérons que l'inhibition des protéinases de cystéine endogènes par Z-Phe-Ala-CHN<sub>2</sub> appauvrit le parasite en nutriments essentiels nécessaires à la synthèse de l'ADN, ce qui, à son tour, empêche la progression du cycle cellulaire. Cet arrêt déclenche ensuite une différenciation des formes longues et minces en formes courtes et trapues.

14160. **Stephens, J. L., Lee, S. H., Paul, K. S. et Englund, P. T., 2007.** Mitochondrial fatty acid synthesis in *Trypanosoma brucei*. [Synthèse des acides gras dans les mitochondries de *T. brucei*.] *Journal of Biological Chemistry*, **282** (7): 4427-4436.

Department of Biological Chemistry, Johns Hopkins School of Medicine, Baltimore, Maryland 21205, E.-U.

Alors que d'autres organismes utilisent des synthèses de type I ou type II pour fabriquer des acides gras, les parasites trypanosomatides tels que *Trypanosoma brucei* sont uniques dans leur utilisation de la voie d'élongase microsomale (ELO) pour la synthèse d'acide gras *de novo* (FAS). A cause du métabolisme inhabituel des lipides chez le trypanosome, il était important d'étudier une deuxième voie de FAS prédite par le génome comme une synthèse de type II. Nous avons localisé cette voie dans la mitochondrie, et une interférence de l'ARN (ARNi) ou une délétion génomique de la protéine porteuse d'acyle (ACP) et une synthèse de beta-kétoacyl-ACP ont indiqué que cette voie est probablement essentielle aux stades du cycle biologique (forme sanguine et procyclique) du parasite. Des essais *in vitro* montrent que le plus grand produit des acides gras de la voie est C<sub>16</sub>, alors que la voie d'ELO, utilisant les ELO 1, 2 et 3, synthétise jusqu'à C<sub>18</sub>. Pour démontrer la FAS mitochondriale *in vivo*, nous avons marqué par un traceur radioactif les acides gras chez des parasites procycliques cultivés avec <sup>14</sup>C pyruvate ou <sup>14</sup>C thréonine, qui sont tous deux

catabolisés en  $^{14}\text{C}$  acétyl-CoA dans la mitochondrie. Bien que certains des  $^{14}\text{C}$  acétyl-CoA puissent être utilisés par la voie d'ELO, une réduction frappante des acides gras marqués par un traceur radioactif suite à une ARNi de l'ACP a confirmé qu'elle est également consommée par la FAS mitochondriale. Une déplétion de l'ACP par ARNi ou une désactivation du gène réduit également les niveaux d'acide lipoïque et diminue spectaculairement la lipoylation des protéines. Par conséquent, l'octanoate ( $\text{C}_8$ ), le précurseur de la synthèse de l'acide lipoïque, doit être également un produit de la FAS mitochondriale. Les trypanosomes emploient deux systèmes de FAS: la voie d'ELO non conventionnelle qui synthétise les acides gras en vrac et une voie mitochondriale qui synthétise les acides gras utilisés probablement de façon intramitochondriale.

14161. **Urwyler, S., Studer, E., Renggli, C. K. et Roditi, I., 2007.** A family of stage-specific alanine-rich proteins on the surface of epimastigote forms of *Trypanosoma brucei*. [Une famille de protéines riches en alanine spécifique au stade sur la surface des formes épimastigotes de *T. brucei*.] *Molecular Microbiology*, **63** (1): 218-228.

Institut de Biologie cellulaire, Université de Berne, Berne, Suisse.

Un modèle à «deux revêtements» du cycle biologique de *Trypanosoma brucei* a prédominé depuis plus de 15 ans. Les formes métacycliques transmises par les glossines infectées et les formes sanguines chez les mammifères sont recouvertes par des glycoprotéines variables de surface. On pensait que tous les autres stades du cycle biologique comportaient un revêtement de procycline jusqu'à ce qu'il ait été démontré récemment que les formes épimastigotes dans les glandes salivaires des glossines expriment des ARNm de procycline sans les traduire. Comme les formes épimastigotes ne peuvent pas être cultivées, une procédure a été mise au point pour comparer les transcriptomes des parasites dans différents tissus des glossines. Les transcriptions codant une famille de protéines ancrées dans le glycosylphosphatidyl inositol, les BARP (appelées auparavant des protéines riches en alanine dans la circulation sanguine), étaient 20 fois plus abondantes dans les trypanosomes des glandes salivaires que dans ceux (procycliques) du mésogastre. Des sérums immuns contre BARP réagissaient fortement et exclusivement avec les parasites des glandes salivaires et une région BARP 3' de flanquement régissait l'expression des gènes indicateurs spécifique aux épimastigotes chez la glossine, mais ils inhibaient l'expression dans les formes sanguines et procycliques. Contrairement à un rapport précédent, nous ne pouvions pas détecter de BARP dans les formes sanguines. Nous proposons que les BARP forment un revêtement spécifique au stade pour les formes épimastigotes et nous suggérons qu'elles devraient être rebaptisées protéines de *brucei* riches en alanine.

14162. **Wang, Y., Singh, U. et Mueller, D. M., 2007.** Mitochondrial genome integrity mutations uncouple the yeast *Saccharomyces cerevisiae* ATP synthase. [Les mutations de l'intégrité du génome dans les mitochondries déclenchent la synthèse d'ATP de la levure *S. cerevisiae*.] *Journal of Biological Chemistry*, **282** (11): 8228-8236.

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Rosalind Franklin University of Medicine and Science, The Chicago Medical School, North Chicago, Illinois 60064, E.-U.

La synthase d'ATP dans les mitochondries est un moteur moléculaire, qui associe le flux de protons à la phosphorylation de l'ADP. Une rotation de la tige centrale au sein du centre de la synthase d'ATP produit des changements de conformation dans les sites actifs régissant la synthase d'ATP. Des mutations de l'intégrité du génome mitochondrial (mgi) ont été identifiées auparavant dans les sous-unités alpha, beta et gamma de la synthase de l'ATP dans la levure *Kluyveromyces lactis* et chez le trypanosome *Trypanosoma brucei*. Ces mutations annulent la létalité de la perte d'ADN mitochondrial dans des petites souches négatives. Une introduction des mutations homologues dans *Saccharomyces cerevisiae* résulte en des souches de levure qui perdent l'ADN mitochondrial à un rythme rapide et en des réductions associées de l'association de la synthase d'ATP. La structure de F1-ATPase de la levure révèle que les résidus de mgi se regroupent autour de la sous-unité gamma et sélectivement autour de la région du collier de F1. Ces résultats indiquent que les résidus dans le groupe de complémentation en mgi sont nécessaires pour une association efficace de la synthase d'ATP, agissant peut-être comme un support pour fixer l'axe de rotation de la tige centrale.

14163. **Welburn, S. C., Macleod, E., Figarella, K. et Duzensko, M., 2006.** Programmed cell death in African trypanosomes. [Mort cellulaire programmée chez les trypanosomes africains.] *Parasitology*, 132 Suppl: S7-S18.

Centre for Infectious Diseases, College of Medicine and Veterinary Medicine, Université d'Édimbourg, EH25 9RG, R-U. [sue.welburn@ed.ac.uk].

Jusqu'à récemment, il a été généralement supposé que l'apoptose et d'autres formes de mort programmée des cellules se sont développées au cours de l'évolution des métazoaires pour réguler la croissance et le développement de ces organismes pluricellulaires. Toutefois, des recherches récentes confortent des observations phénotypiques décrites il y a presque une décennie qui indiquaient que certains protozoaires parasitaires peuvent avoir développé une voie de mort cellulaire analogue au processus décrit en tant qu'apoptose chez les métazoaires. Nous explorons ici les implications d'une voie de mort programmée des cellules chez les trypanosomes africains transmis par les glossines.

14164. **Willert, E. K., Fitzpatrick, R. et Phillips, M. A., 2007.** Allosteric regulation of an essential trypanosome polyamine biosynthetic enzyme by a catalytically dead homologue. [Régulation allostérique d'un enzyme biosynthétique essentiel de polyamine du trypanosome par un homologue inactif du point de vue catalytique.] *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **104** (20): 8275-8280.

Department of Pharmacology, University of Texas Southwestern Medical Center, 6001 Forest Park Road, Dallas, TX 75390-9041, E.-U.

La maladie du sommeil africaine est une maladie létale causée par le parasite protozoaire *Trypanosoma brucei*. La biosynthèse de polyamine est une voie essentielle chez

le parasite et est une cible de médicament validée pour le traitement de la maladie. La décarboxylase de S-adénosylméthionine (AdoMetDC) catalyse une étape-clé dans la biosynthèse de la polyamine. Nous montrons ici que les trypanosomatides contiennent particulièrement à la fois une AdoMetDC fonctionnelle et un prozyme formé par un gène paralogue qui a perdu son activité catalytique. Le prozyme de *T. brucei* forme un hétérodimère à affinité élevée avec AdoMetDC qui multiplie son activité 1 200 fois. Les deux gènes sont exprimés chez *T. brucei* et une analyse de l'activité d'AdoMetDC dans des extraits de *T. brucei* conforte la conclusion selon laquelle l'hétérodimère est l'enzyme fonctionnel *in vivo*. Par conséquent, le prozyme a évolué pour être une sous-unité d'AdoMetDC inactive du point de vue catalytique mais active du point de vue allostérique, fournissant un exemple de la façon dont des régulateurs d'enzymes multimériques peuvent évoluer par le biais de la duplication des gènes et de la dérive de mutation. Ces données identifient un mécanisme distinct pour réguler AdoMetDC chez le parasite qui suggère de nouvelles stratégies pour le développement d'inhibiteurs de la voie biosynthétique de la polyamine spécifiques au parasite.

