

1.3 La réponse au stress chez *Drosophila melanogaster*

1.3.1 Les sHsps chez *Drosophila melanogaster*

L'étude de l'expression et la fonction des sHsps en utilisant pour organisme modèle *Drosophila melanogaster* est l'un des principaux axes de recherche du laboratoire Robert M Tanguay. Le génome de cet organisme code pour 12 protéines contenant le domaine ACD (pfam family: PF00011, (Finn et al., 2014)) (Tableau 1.3). Parmi ces 12 sHsps, 7 sont localisées à la position 67B dans le bras gauche du chromosome 3. DmHsp22, DmHsp23, DmHsp26 et DmHsp27 étaient les premières *D.melanogaster* sHsps (DmsHsps) découvertes suivi par Hsp67Ba et Hsp67Bc (Ayme and Tissieres, 1985, Craig and McCarthy, 1980). CG4385, la dernière DmsHsps rapportée (FlyBase annotation : FBrf0217539), localisée au niveau du bras gauche du chromosome 2 comme CG13133, mais dans un locus différent. Un transcrite et un polypeptide sont associés avec CG43851, mais peu d'informations sont disponibles. Une analyse indique la divergence de CG43851 par rapport aux autres sHsps (Morrow and Tanguay, 2015). Il faut noter que CG43851 est plus proche des sHsps de plantes qu'aux sHsps de drosophile. Une analyse de la séquence de CG43851 révèle qu'il manque la boucle contenant le brin β_6 (Figure 1.5) tout comme *Arabidopsis thaliana* Hsp18.5, ce qui suggère qu'elle existe sous forme de dimère et qu'elle forme des gros oligomères seulement lorsqu'elle est liée au substrat (Morrow and Tanguay, 2015, Basha et al., 2013). Pour la plupart des DmsHsps, il n'existe pas d'orthologue humain. DmHsp67Bc est l'équivalent fonctionnel de HspB8 (Carra et al., 2010) et l(2)efl et serait l'équivalent de HspB5 (Wang et al., 2011).

NTR

```

Q41560_Hap16.9_WHEAT .....MSIVRRTN.....VFDPFA.....DLWADPFD
P02518_DmHap27 .....MSIIPLL..HLA...RELDHRYRTDGHLLLEDDFGFVHA.....HDLFHPRR
P02515_DmHap22 .....MRSILVFMF..RMA...EMARMFR.....LSSFF.....HAFFHEFP
P02516_DmHap23 .....MANIPLLL.SLA...DDLGRMSM.....VPFYEPY...CQRQNPY
P02517_DmHap26 .....MSLSILL..SLV...DELQEPS.....PIYELGL.....GLHPHRY
P82147_Dm12ef1 .....MSVPLMFRDWM...DELDFPMR...TSRLLDQHFGQLKRDLLMSSVNSRPT
P05812_DmHap67Ba .....MSLIPFIL.DLA...EELHDFNR.SLAMIDDSAGFGLYPLEATSQPLSRGVA
P22979_DmHap67Bc .....MPDIPFV.....LNLDSFDSMYGHDMPFNRMRYRLH.....SRQHSOLD
Q81QW5_DmCG14207 MAEANKRNIPLKLDGDFSVIDTEFSNIRERFDSEMRKMEEMAKFR.....HELMNREA
Q9VL41_DmCG13133 .....MFINM.DWD...WEHDHENG.....H.....HHQPRR
Q9VSA9_DmCG7409 .....MALVPAATNNTDM...REFDRLP.....LYHPYDFQLYP.....DYWDRRL
Q9VSK2_DmCG4461 .....MSLVPITTYRDL.S...REFDRLP.....LYHPYDFQLYP.....LYWDDRR
M9PCC9_DmCG43851 .....MSGQKYKCVF.....DSQDFRIM.....QSECEKRV.....KQLEKDVY
  
```

```

Q41560_Hap16.9_WHEAT TFR.....SIVPAISGGGSETAAAFANARMW.....
P02518_DmHap27 LLL.....PNTLGLGRRRYSFYERSHGHHNQMSRR.....
P02515_DmHap22 VWS.....VALPRNQQQIARWGEQ.....
P02516_DmHap23 LAL.....VGPMEQQLRQLEKQVGA.....
P02517_DmHap26 VLFLOTQQRRIWCPICSPICPSSPAGQVLAIKRREMANRNDHW.....
P82147_Dm12ef1 VLR.....SGYLRPW.HTNSLQKQ.....
P05812_DmHap67Ba AWE..CNDVGAHQSGVGGHRSIAIIRIIVNPEPRLAAISRWSMKNRNNAIRARPGQAAR
P22979_DmHap67Bc LHT.....LGLIARMGANAHHLVAN.....
Q81QW5_DmCG14207 NFF.....ESTSSTKTTTTSTINSALPFRIPKQ.....
Q9VL41_DmCG13133 HWSTGESKCRQRHYLSHDLVDCARDFHLRMDDSAWCHGSCLVGR.....
Q9VSA9_DmCG7409 LWR.....DMDLNDWDLPYKRSLSRVGS.....
Q9VSK2_DmCG4461 MWFSFHTSRSDLLRPLDELVSRVVRNQLIQSTPYEWAHPMRWDNY.....
M9PCC9_DmCG43851 DCC.....RMMNNAEEVEDISTTWIKA.....
  
```

ACD

```

P02518_DmHap27 .....KETPEANV.....FKA..DLPGVKKSEVKEVEGDNVLYVSGERTREKEDK
Q41560_Hap16.9_WHEAT .....ASGGPNALLFAVKGDG...FQVCHDVSQFKNPELITVYVVDNT.VVVEGKH.DEMEDG
P02518_DmHap27 .....EFAPPAIVKDG...FKLITLDVKDY...SELKIVLDESNV...CKGK...DQQAEE
P02516_DmHap23 .....SSGSGAVSKVKGDG...FQVCHDVSQFKNPELITVYVVDNT.VVVEGKH.DEMEDG
P02517_DmHap26 .....PATAHVKDG...FQVCHDVAQFKNPELITVYVVDNT.VVVEGKH.DEMEDG
P82147_Dm12ef1 .....EGGSTLNDSEK...FVILLDVQQFSPSEITVYVVDKPF.VVEGKH.DEMEDG
P05812_DmHap67Ba PVANGASKSAYSVNRNG...FQVSNVQVFAANELITVYVVDNC.IVVEGKH.DEMEDG
P22979_DmHap67Bc ..KRNGLAALSNGGASNKQGNFVHLDVGLFQFQELITVYVVDNC.IVVEGKH.DEMEDG
Q81QW5_DmCG14207 ..QNYVSDISSFLQDEGDNKLKLRFDVQYAPKELITVYVVDKQK.LVVEGKH.DEMEDG
Q9VL41_DmCG13133 ..VVIEGTGTEPDSVGRGT...FKVYLDVHVFQISELITVYVVDKQK.LVVEGKH.DEMEDG
Q9VSA9_DmCG7409 .....APDLSRVVKGDG...FEANVDVHLFQYELISVYVVDKQK.LVVEGKH.DEMEDG
Q9VSK2_DmCG4461 .....YSGERVHVEKG...FRIDLDVRFQFQELITVYVVDKQK.LVVEGKH.DEMEDG
M9PCC9_DmCG43851 .....MRTKGEKEN...VSMETDMRDFPIENICLQKQSH.LVVEGKH.DEMEDG
  
```

```

P02518_DmHap27 .....NDKWRHVERSSGKTVLRRL.LLDAKVEEVVAGL..EESCGLLEVTIDK...AEVKK...PE
Q41560_Hap16.9_WHEAT H.GM....IQNVVRRKYLKGFDPNVEVVTGVS...FQVCHDVSQFKNPELITVYVVDNT.VVVEGKH.DEMEDG
P02518_DmHap27 QGGY....SSANFLRRVFLPEGEADKVTSTLSSGGLTIVSVPN...PPSKEQ...AKS
P02516_DmHap23 H.GF....ITRNVVRRVYLPFGYEAADKVAISTLSSGGLTIVSVPN...PPSKEQ...AKS
P02517_DmHap26 H.GH....IMRNVVRRVYLPFGYEAADKVAISTLSSGGLTIVSVPN...PPSKEQ...AKS
P82147_Dm12ef1 H.GY....VSNVRRVYLPFGYEAADKVAISTLSSGGLTIVSVPN...PPSKEQ...AKS
P05812_DmHap67Ba H.GV....ISRNVVRRVYLPFGYEAADKVAISTLSSGGLTIVSVPN...PPSKEQ...AKS
P22979_DmHap67Bc H.GH....VSNVRRVYLPFGYEAADKVAISTLSSGGLTIVSVPN...PPSKEQ...AKS
Q81QW5_DmCG14207 KSVY....HEVNVVRRVYLPFGYEAADKVAISTLSSGGLTIVSVPN...PPSKEQ...AKS
Q9VL41_DmCG13133 GQLC....ITRNVVRRVYLPFGYEAADKVAISTLSSGGLTIVSVPN...PPSKEQ...AKS
Q9VSA9_DmCG7409 D.IF....VGNVRRVYLPFGYEAADKVAISTLSSGGLTIVSVPN...PPSKEQ...AKS
Q9VSK2_DmCG4461 SNGL....VSNVRRVYLPFGYEAADKVAISTLSSGGLTIVSVPN...PPSKEQ...AKS
M9PCC9_DmCG43851 .....KNVIVRQKILIQNVDTSKLVAELTASGLAISTV...VSPISD...NQK
  
```

CTE

```

Q41560_Hap16.9_WHEAT VKAIDTSG.....APEAGDGKAENGSGEKMETSK
P02518_DmHap27 ERIVQIQQTGPANLSVKAP.....AKKSAEFPNDKAAASQ.....
P02515_DmHap22 ERIVQIQVGPANLVKEN.....PKEAVEQDNGNDK.....
P02516_DmHap23 ERIVQIQVGPANLVKAN.....SKEDNAKKVETSTA.....
P82147_Dm12ef1 ERIVQIQTGPS.....SQQKDKDAHRQSRQR.....
P05812_DmHap67Ba ERIVQIQQI.....GHKEAGPAASASEPEAK.....
P22979_DmHap67Bc ERIVQIKHVGPSDLFQNGN.....ETLPIIAHK.....
Q81QW5_DmCG14207 ERIVQIEPTGNYFGSVSDPTAPKAIEQADVDDGGGEANPAGTAMDK
Q9VL41_DmCG13133 ERIVQIVRQVGPSYLSIKN.....
Q9VSA9_DmCG7409 ERIVRVHETGKLAIPFK.....
Q9VSK2_DmCG4461 ERIVRVHETGKLAIPFK.....
M9PCC9_DmCG43851 ERIVRVHETGKLAIPFK.....
  
```

Figure 1.5 : Alignement des séquences des petites protéines de stress chez *Drosophila melanogaster*.

L'alignement est généré en utilisant MUSCLE. Les numéros d'accès UniProt des séquences utilisées dans les alignements sont indiqués. La structure secondaire du domaine ACD prédit de DmHsp27 (Moutaoufik et al., 2016) et de Hsp16.9 du blé (PDB: 1GME (van Montfort et al., 2001b) est indiquée en haut. Tête de flèche noire indique la position de la boucle contenant le brin β 6 manquante.

1.3.2 Localisation intracellulaire de DmsHsps

De façon similaire aux sHsps chez les plantes, les DmsHsps ont différentes localisations intracellulaires. DmHsp22 est située dans la matrice mitochondriale (Morrow et al., 2000b), DmHsp27 est nucléaire (Beaulieu et al., 1989b, Michaud et al., 2008) et les autres sHsps étudiées sont cytoplasmiques (Vos, 2009, Zhang et al., 2011b, Michaud et al., 2002, Zhang et al., 2011a) (Tableau 1.3). L'analyse de la séquence de CG43851 prédit une localisation nucléaire ou cytoplasmique en fonction de l'outil de prédiction utilisé (Morrow and Tanguay, 2015). Le fait que chez la drosophile, les sHsps sont localisées dans différents compartiments fait penser que leur navette à d'autres compartiments cellulaires n'est pas nécessaire. Récemment, DmHsp26 a été trouvée dans la matrice nucléaire des cellules S2 (*Drosophila Schneider* 2) et des embryons avec l'expression de DmHsp27 (Kallappagoudar et al., 2010). Ceci est le premier rapport montrant une localisation nucléaire pour cette protéine décrite comme cytoplasmique. Cependant, deux explications possibles : 1) vu que DmHsp26 a été trouvée avec DmHsp27 nucléaire ouvre la possibilité de la formation d'un hétérodimère, 2) possibilité d'une modification post-traductionnelle, par phosphorylation par exemple qui permettrait une double localisation cytoplasmique/nucléaire comme ce qui a été signalé pour HspB5 dans certains types de cellules non stressées (den Engelsman et al., 2013, Morrow and Tanguay, 2015). Cependant, DmHsp27 se trouve dans le noyau grâce à la présence d'un signal de localisation nucléaire (NLS) (Michaud et al., 2008).

Numéro CG	Nom	Taille en kDa	Modifications post-traductionnelles	Localisation intracellulaire
CG14207	-	4 transcrits (21.8/20.8/17.2/17.1)	1 phosphoserine (Bodenmiller et al., 2007)	Cytoplasmique (Zhang et al., 2011a, Vos, 2009)
CG43851	-	16.9	ND	Cytoplasmique (Morrow and Tanguay, 2015)
CG13133	-	24.5	ND	Cytoplasmique (Vos, 2009, Zhang et al., 2011a)
CG4533	l(2)efl	2 transcrits (21.3/17.2)	ND	Cytoplasmique (Vos, 2009, Zhang et al., 2011a)
CG7409	-	18.0	ND	Cytoplasmique (Vos, 2009, Zhang et al.,

				2011a)
CG4461	-	23.8	ND	Cytoplasmique (Vos, 2009, Zhang et al., 2011a)
CG4167	Hsp67Ba	26.6	ND	Cytoplasmique (Vos, 2009, Zhang et al., 2011a)
CG4183	Hsp26	23.0	5 formes (Marin et al., 1993)/3phospho- serines (Bodenmiller et al., 2007)	Cytoplasmique (Vos, 2009, Zhang et al., 2011a, Michaud et al., 2002)
CG4190	Hsp67Bc	22.2	ND	Cytoplasmique (Vos, 2009, Zhang et al., 2011a)
CG4460	Hsp22	19.8	1 phospho- threonine (Zhai et al., 2008)	Mitochondriale (Morrow et al., 2000a)

CG4463	Hsp23	20.6	2 formes (Marin et al., 1996b)	Cytoplasmique (Vos, 2009, Zhang et al., 2011a, Michaud et al., 2002)
CG4466	Hsp27	23.6	4 formes (Marin et al., 1996a)/3 phospho-serines (Bodenmiller et al., 2007)	Nucléaire (Beaulieu et al., 1989b, Michaud et al., 2008)

Tableau 1-3: Les sHsps chez *Drosophila melanogaster*.

1.3.3 Expression des sHsps au cours du développement de la drosophile

L'expression des DmsHsps durant le développement en absence de stress se fait de façon non coordonnée. DmHsp22, DmHsp23, DmHsp26, DmHsp27, DmHsp67Ba, DmHsp67Bc et l(2)efl présentent des niveaux d'expression variables selon le tissu et le stade de développement (Michaud et al., 2002). Elles sont surtout présentes dans la lignée germinale, le système nerveux et les cellules musculaires et sont induites par l'hormone ecdysone. L'expression de CG14207 est limitée à des cellules musculaires fondatrices et au myoblastes somatiques dans l'embryogenèse (Artero et al., 2003, Estrada et al., 2006, Tomancak et al., 2007). Il faut noter qu'aucune expression au cours du développement de la drosophile n'a été reportée pour CG13133, CG7409, CG4461 et CG43851. Le seul indice dont on dispose est le niveau d'expression d'ARNm (Celniker et al., 2009, Chintapalli et al., 2007, Morrow and Tanguay, 2015). Au niveau fonctionnel les DmsHsps peuvent être impliquées dans plusieurs processus cellulaires. DmHsp23, DmHsp26 et DmHsp27 semblent être impliquées dans la morphogenèse de l'embryon

(Fisher et al., 2008, Goldstein and Gunawardena, 2000, Gong et al., 2004, Hughes et al., 2008). DmHsp23 est associée avec des lignées neurales et gliales (Michaud and Tanguay, 2003) et a été identifiée dans un criblage protéomique visant à identifier les protéines impliquées dans la formation du sillon ventral (Gong et al., 2004). En outre, Hsp26 interagit avec la myosine 10A, une protéine impliquée dans le maintien d'équilibre entre l'actine et microtubule (Liu et al., 2008). Ceci place DmHsp26 dans la même catégorie que HspB1, HspB5 et HspB6 qui sont impliquées dans l'organisation et la régulation de l'actine (Morrow and Tanguay, 2015). Une interaction au niveau des ovaires entre DmHsp27 et *vreteno* (Handler et al., 2011, Zamparini et al., 2011), un des quatre facteurs requis pour l'interaction de l'ARN-Piwi (piRNA) dans les ovaires permet de penser à la possibilité que DmHsp27 joue un rôle dans l'inactivation des ARN (RNA silencing) dans les ovaires, d'autant que cela concorde avec la spécificité d'expression de DmHsp27 lors de l'ovogenèse (Marin and Tanguay, 1996). Il est intéressant de noter que DmHsp27 montre une localisation intracellulaire différente durant l'ovogenèse : du stade germarium jusqu'au stade 6, DmHsp27 est localisée dans le noyau de cellules nourricières alors qu'elle présente une localisation périnucléaire et cytoplasmique à partir du stade 8 jusqu'au stade 12 (Marin and Tanguay, 1996). Le mécanisme responsable de cette localisation cytoplasmique n'est pas connu. Par contre, cette localisation pourrait être requise pour le transport de DmHsp27 des cellules nourricières vers l'oocyte au stade 10 lorsque les cytoplasmes des cellules nourricières se déversent dans l'oocyte (Marin and Tanguay, 1996).

DmHsp27 est impliquée aussi dans le développement de l'œil et l'abolition de son expression donnant un phénotype d'œil rugueux avec des ommatidies fusionnées et élargies (Chen et al., 2012). Le mécanisme par lequel DmHsp27 régule le développement de l'œil reste inconnu.

Bien que l'expression de sHsps soit étroitement régulée au cours du développement, la délétion de l'une ou l'autre n'a pas d'effets délétères. Ceci est testé pour CG14207, DmHsp22, DmHsp23 et DmHsp27, ce qui suggère un rôle non essentiel de ces DmsHsps au cours du développement de la mouche (Hao et al., 2007, Michaud and Tanguay, 2003, Morrow et al., 2004, Zimmermann et al., 2006). La perte de 7 DmsHsps par suppression du locus 67B n'a pas d'effet délétère au cours du développement (Geiger-

Thornsberry and Mackay, 2004). DmHsp22, DmHsp67Ba et DmHsp67Bc jouent un rôle dans la stabilité phénotypique à différentes conditions environnementales (Takahashi et al., 2010).

Chez les mouches adultes, lors du développement les DmsHsps montrent aussi une expression tissu-spécifique. La plupart de DmsHsps sont exprimées au niveau des gonades, système nerveux et muscles (Kapelnikov et al., 2008, McGraw et al., 2008, Michaud et al., 2002). Si la délétion de l'expression de DmsHsps n'a pas d'effets délétères sur le développement de l'embryon, elle affecte la durée de vie des mouches adultes (Morrow et al., 2004, Landis et al., 2012, Zou et al., 2000, Hao et al., 2007, Liao et al., 2008). En effet, l'élimination de l'expression de DmHsp22, DmHsp23 ou DmHsp27 conduit à une diminution de la durée de vie. Les mouches qui n'expriment pas DmHsp27 sont plus sensibles à la famine et aux infections (Chen et al., 2010b, Hao et al., 2007). Lors du vieillissement l'expression de DmsHsps augmente sauf pour CG7409 et CG4461 (Morrow and Tanguay, 2015). En conséquence, la surexpression de l(2)efl, DmHsp22, DmHsp23, DmHsp26 et DmHsp27 montrent une augmentation de la durée de vie (Morrow and Tanguay, 2015). Toutes les DmsHsps sont régulées lors du vieillissement. On observe une augmentation de CG14207, L(2)EFL, DmHsp67Bc, DmHsp22, DmHsp23, DmHsp26 et DmHsp27 alors que CG7409 et CG4461 diminuent lors du vieillissement (Landis et al., 2012, Morrow and Tanguay, 2015). Une expression précoce de DmHsp22 et DmHsp23 est observée chez des mouches sélectionnées génétiquement pour augmenter la longévité (Kurapati et al., 2000, Zhao et al., 2005). L'inhibition de DmHsp22, DmHsp23 et DmHsp27 diminue la longévité ce qui suggère un rôle important de DmsHsps lors du vieillissement (Morrow et al., 2004).

Pour conclure sur ces différents points, l'expression âge et tissu-dépendante des sHsps reflète l'existence d'une fonction spécifique pour chaque DmsHsps selon sa localisation, le tissu d'expression et le stade de développement. Bien que DmHsp22, DmHsp23, DmHsp26 et DmHsp27 restent les plus étudiées chez la drosophile, les recherches sur les autres membres vont aider à la compréhension de la diversité des DmsHsps. Leurs profils d'expression lors du développement, la localisation intracellulaire et la spécificité des substrats, suggèrent que la variation de séquence d'acides aminés (surtout NTR et CTE) puisse être importante pour la détermination de la structure et la

fonction. Étant donné la diversification des fonctions de DmsHsps, beaucoup de travail reste à faire pour comprendre les mécanismes de ses fonctions.

1.3.4 Induction des DmsHsps lors du stress

Les quatre DmsHsps les plus étudiées (DmHsp22, DmHsp23, DmHsp26 et DmHsp27) sont fortement inductibles suite à un choc thermique (Marin et al., 1996a, Michaud et al., 1997a). Une étude récente a montré que seulement CG14207 et CG13133 ne sont pas inductibles par la chaleur (Vos et al., 2016) en utilisant des cellules S2. S'il est admis que toutes les cellules sont capables d'induire les sHsps suite à un stress thermique, le préblastoderme du jeune embryon de *D.melanogaster* présente une exception à cette règle suite au choc thermique (Dura, 1981). En plus, l'induction des DmsHsps suite au stress dépend du type cellulaire et du stade de développement. Par exemple dans l'œil de drosophile DmHsp23 est induite seulement dans les cônes, alors que DmHsp27 et DmHsp26 sont exprimées dans tous les types cellulaires de l'ommatidium (Marin et al., 1996a). Aussi dans les testicules DmHsp23 et DmHsp27 ne sont pas induites par le choc thermique (Michaud et al., 1997b), alors que suite au choc thermique l'embryon exprime DmHsp22, DmHsp26, DmHsp27 et DmHsp67Bc (Leemans et al., 2000), les mouches de 10 jours expriment en plus DmHsp76Ba, CG7409 et Dml(2)efl (Landis et al., 2012).

Il est important de signaler que DmHsp22, DmHsp23, DmHsp26 et DmHsp27 sont induites par le froid (Colinet et al., 2010a, Colinet et al., 2010b, Colinet et al., 2013, Zhang et al., 2011b) et cela semble suggérer que ces DmsHsps peuvent avoir un rôle dans l'adaptation climatique. Des études sur des drosophiles subsahariennes et européennes montrent une surexpression de CG7409 dans les drosophiles africaines et DmHsp23 dans les drosophiles européennes (Catalan et al., 2012, Muller et al., 2011). Ces variations de l'expression génique peuvent être utilisées comme marqueur de sélection/adaptation aux conditions de l'environnement.

1.3.5 Modification post-traductionnelles des sHsps de drosophile

Cinq des 12 DmsHsps sont reconnues pour être sujettes à des modifications post-traductionnelles. DmHsp22 présente deux isoformes avec une phospho-threonine (Zhai et al., 2008). Il existe 2 isoformes pour DmHsp23 nommées isoforme a et b (Marin et al., 1996b). Pour DmHsp26 Marin et al. 1993, ont rapporté l'existence de 5 isoformes avec 3 sérines qui peuvent être phosphorylées (Bodenmiller et al., 2007). DmHsp27 est présente sous quatre isoformes (Marin et al., 1996b) dont 3 phosphoserines ont été identifiées (Bodenmiller et al., 2007, Zhai et al., 2008). CG14207 présente une seule forme avec une phosphoserine (Bodenmiller et al., 2007). Toutes ces isoformes montrent une expression différentielle selon le stade de développement. Pour DmHsp23 les deux isoformes sont présentes de façon constitutive dans la tête et les testicules des drosophiles de 0 à 6 jours, alors que seule l'isoforme « a » est présente en faible quantité dans les ovaires (Marin et al., 1996b). Cependant, suite à un choc thermique, on note l'apparition de l'isoforme « b » dans les ovaires et de l'isoforme « a » dans les muscles thoraciques. Pour DmHsp27 on retrouve de façon constitutive les quatre isoformes dans la tête et les testicules alors que l'on observe seulement les formes non et di-phosphorylées dans les ovaires des mouches adultes (Marin et al., 1996b). Le choc thermique mène à l'apparition de formes supplémentaires absentes en conditions normales, comme dans les ovaires où l'isoforme mono-phosphorylée fait son apparition suite au stress. On ignore l'effet de la phosphorylation sur la structure et la fonction chaperon des DmsHsps. Dans le chapitre 4 j'ai étudié l'effet de la phosphorylation sur DmHsp27.

1.3.6 Activités biologiques des DmsHsps

Les fonctions des DmsHsps sont mal connues, mais il est probable que ces fonctions soient liées à l'activité de chaperon moléculaire que possèdent ces protéines. *In vitro*, DmHsp22, DmHsp23, DmHsp26 et DmHsp27 peuvent prévenir l'agrégation induite par la chaleur du citrate synthase et de la luciférase et les maintenir dans un état natif (Morrow et al., 2006). La capacité chaperon a été testée *in vivo* en utilisant luciférase et EGFP-Htt-Q119 comme substrats (Vos et al., 2016). CG14207 et CG7409

ont une forte capacité pour faciliter le repliement de la luciférase dénaturée par la chaleur, DmHsp23, DmHsp26 et DmHsp27 ont une capacité moyenne, DmL(2)EFL est moins efficace alors que DmHsp67Ba, DmHsp67Bc, CG4461 et CG13133 n'ont aucun effet sur la renaturation de la luciférase (Vos et al., 2016). DmHsp27 et CG14207 ont la capacité de prévenir l'agrégation de la luciférase qui est partiellement dépendante de la machinerie de Hsp70 (Vos et al., 2016).

DmHsp67Bc active l'autophagie pour éliminer les agrégats de haut poids moléculaire (Carra et al., 2010). Cette activation se produit via la liaison de la starvine (d'une façon similaire à la liaison HspB8 et Bag3) (Carra et al., 2010, Carra et al., 2009). Un rôle des DmsHsps dans la réponse immunitaire a été suggéré. La défense de drosophile contre les agents pathogènes implique la voie de signalisation p38 MAPK (Eleftherianos and Castillo, 2012, Kingsolver et al., 2013), ce qui se traduit par l'activation du facteur de transcription HSF et une expression de DmHsp26, DmHsp27, DmHsp60D et DmHsp70Bc pour activer la défense de l'hôte (Chen et al., 2010b). En accord avec cela, les mouches sans DmHsp27 sont plus susceptibles à l'infection pathogène (Chen et al., 2010b, Hao et al., 2007). De même, DmHsp27 réduit la létalité induite par le facteur pro-apoptotique Hid (Head involution defective) (Liao et al., 2008). Alors que DmHSP26 interagit avec ack (activated Cdc42 kinase), une protéine anti-apoptotique (Schoenherr et al., 2012).

En résumé, l'augmentation du nombre de structures 3D des sHsps disponibles a permis une meilleure compréhension de la corrélation entre l'activité chaperon de sHsps et leur dynamique. Néanmoins, nous sommes encore loin de comprendre les détails mécanistiques et les différences entre les divers membres de la famille sHsps. Il n'est pas clair comment différents types d'assemblages peuvent être réalisés par des variations de séquences au niveau de la région N-terminale. En outre, il est énigmatique pourquoi il existe des différences dans le nombre de sous-unités par oligomères, ce que pourrait être les conséquences fonctionnelles et quels sont les limitations des paramètres structurelles. Finalement, les principaux aspects importants de reconnaissance et liaison du substrat et comment le réassemblage sHsps-substrats est organisé, sont encore un mystère. Toutes ces questions ouvertes laissent des perspectives intéressantes pour les années à venir.

Problématique et objectifs

L'un des objectifs à long terme du laboratoire est de comprendre la relation entre la structure et les fonctions des sHsps en utilisant comme modèle *Drosophila melanogaster*, afin de déterminer si la fonction de chaperon peut expliquer les effets dans de nombreux processus biologiques et de dévoiler les raisons de la spécificité d'expression.

Le cas particulier de DmHsp27 est intéressant en raison de sa localisation nucléaire dans le sens où peu de sHsps présentent à ce jour une localisation nucléaire en conditions physiologique. Cette localisation nucléaire est intéressante d'autant plus qu'aucune fonction spécifique n'a encore été identifiée. Le rôle de chaperon moléculaire joué par DmHsp27 et son induction durant le développement embryonnaire laissent cependant présumer que cette protéine remplit des fonctions cellulaires importantes qui pourraient être distinctes de son activité chaperon induite par le stress.

Cependant, peu de données biochimiques ont été publiées sur DmHsp27. L'objectif de cette thèse de doctorat est l'élucidation structural et fonctionnelle de DmHsp27 à travers l'étude de :

- 1- L'oligomérisation de DmHsp27.
- 2- La fonction chaperon des différents assemblages de DmHsp27 et l'identification des résidus et domaines protéiques essentiels dans la structure et la fonction chaperon de la protéine.
- 3- Lien entre la structure et la fonction de chaperon de DmHsp27 suite au stress thermique.