

Résumé

La thiorédoxine réductase chez les moustiques *Anopheles gambiae* : rôle dans le maintien de l'homéostasie redox et manipulation pour la lutte antivectorielle.

Les maladies à transmission vectorielle représentent plus de 17% du totale des maladies infectieuses et provoquent plus de 800 000 décès par an. Parmi les animaux pouvant transmettre des pathogènes humains, les moustiques suceurs de sang sont les plus dangereux. Pour la plupart de ces maladies, éviter les interactions homme-moustique est le meilleur moyen de freiner la transmission. Parmi les stratégies utilisées à cette fin, des mesures de protection individuelle et des insecticides ont été utilisées avec succès. Ces derniers, cependant, perdent leur efficacité en tant que des résistances contre toutes les classes actuellement disponibles se propagent parmi les populations de moustiques. Il y a donc un besoin urgent de développer des nouveaux composés avec des nouveaux modes d'action. La plupart des organismes possèdent deux tampons redox principaux : le glutathion et les thiorédoxines ; néanmoins les insectes ne possèdent pas l'enzyme qui recycle le glutathion - la glutathion réductase -. A la place, le système thiorédoxine / thiorédoxine réductase pourrait compenser cette absence.

Les objectifs de cette thèse étaient ainsi les suivants: (I) mieux caractériser l'homéostasie redox du glutathion chez les moustiques, (II) explorer le rôle de l'antioxydant thiorédoxine réductase et (III) évaluer son potentiel en tant que cible pour des nouveaux insecticides.

A fin d'étudier la dynamique et la réponse antioxydant du glutathion, nous avons établie plusieurs lignées de moustiques transgéniques (*Anopheles gambiae* et *Aedes aegypti*) exprimant une protéine fluorescente sensible à l'oxydo-réduction induit par le glutathion (roGFP). Nous avons ainsi constaté que, malgré l'absence de la glutathion réductase, le glutathion restait fortement réduit et contrôlé chez ces animaux, spécialement chez les femelles. En plus, nous avons constaté une augmentation de son oxydation dans les cellules intestinales lors du stade nymphal et après invasion par des parasites *Plasmodium* – responsables des symptômes du paludisme – suggérant un rôle de ce système dans la métamorphose et la réponse antiparasitaire.

Pour étudier le rôle de l'enzyme thiorédoxine réductase, nous avons généré des mutants pour ce gène chez *Anopheles gambiae* – moustique vecteur du paludisme – à l'aide du système CRISPR/Cas9. Nous avons ainsi montré que cette enzyme est essentielle pendant le développement embryonnaire et post-embryonnaire, mais elle ne l'est pas dans les cellules intestinales à l'étape adulte. Dans ce tissu, nous avons également montré que la thiorédoxine réductase n'est pas indispensable pour le maintien de l'homéostasie redox du glutathion. Des études transcriptomiques comparant des cellules exprimant ou pas ce gène ont suggéré que la perte de la thiorédoxine réductase dans l'intestin pourrait être compensé par le système du glutathion, ouvrant la question sur comment ces animaux régulent, alors, ce dernier.

Finalement, des études d'inhibition *in vitro* ont mené à l'identification de plusieurs molécules inhibitrices de cette enzyme chez les moustiques du paludisme. L'exposition par voie orale à l'un de ces composés, s'est avérée toxique pour ces animaux d'une manière qui dépend de la dose du composé et de l'âge du moustique.

En conclusion, nous avons montré que l'homéostasie redox du glutathion est maintenue de manière stable et est étroitement réglementée chez les moustiques, mais cette régulation est indépendante de la thiorédoxine réductase, au moins dans

l'intestin des adultes. Nous avons aussi montré que cette enzyme est essentielle pendant le développement et que l'inhibition de son activité à l'âge adulte entraîne la mort de l'animal, offrant une cible prometteuse pour le développement des nouveaux insecticides. Finalement, lors de ce projet, nous avons également établi plusieurs outils génétiques pour l'étude des processus d'oxydo-réduction chez les moustiques ainsi que pour la mutagenèse.