

Université de Bordeaux, UFR Sciences de la Santé

Master 2 Recherche Biologie-Santé

Parcours Microbiologie-Immunologie

Année 2017-2018

Rapport Bibliographique

Analyse fonctionnelle de gènes impliqués dans la résistance des levures Candida à la phagocytose macrophagique

Juliette LESBATS

Directeur de stage : Dr. Karine Dementhon

UMR-CNRS 5234 (Pr. Michael Kann)

Equipe *Candida* et Pathogénicité du Pr. Thierry Noël

Laboratoire Microbiologie Fondamentale et Pathogénicité

# Introduction

## Généralités : *Candida*

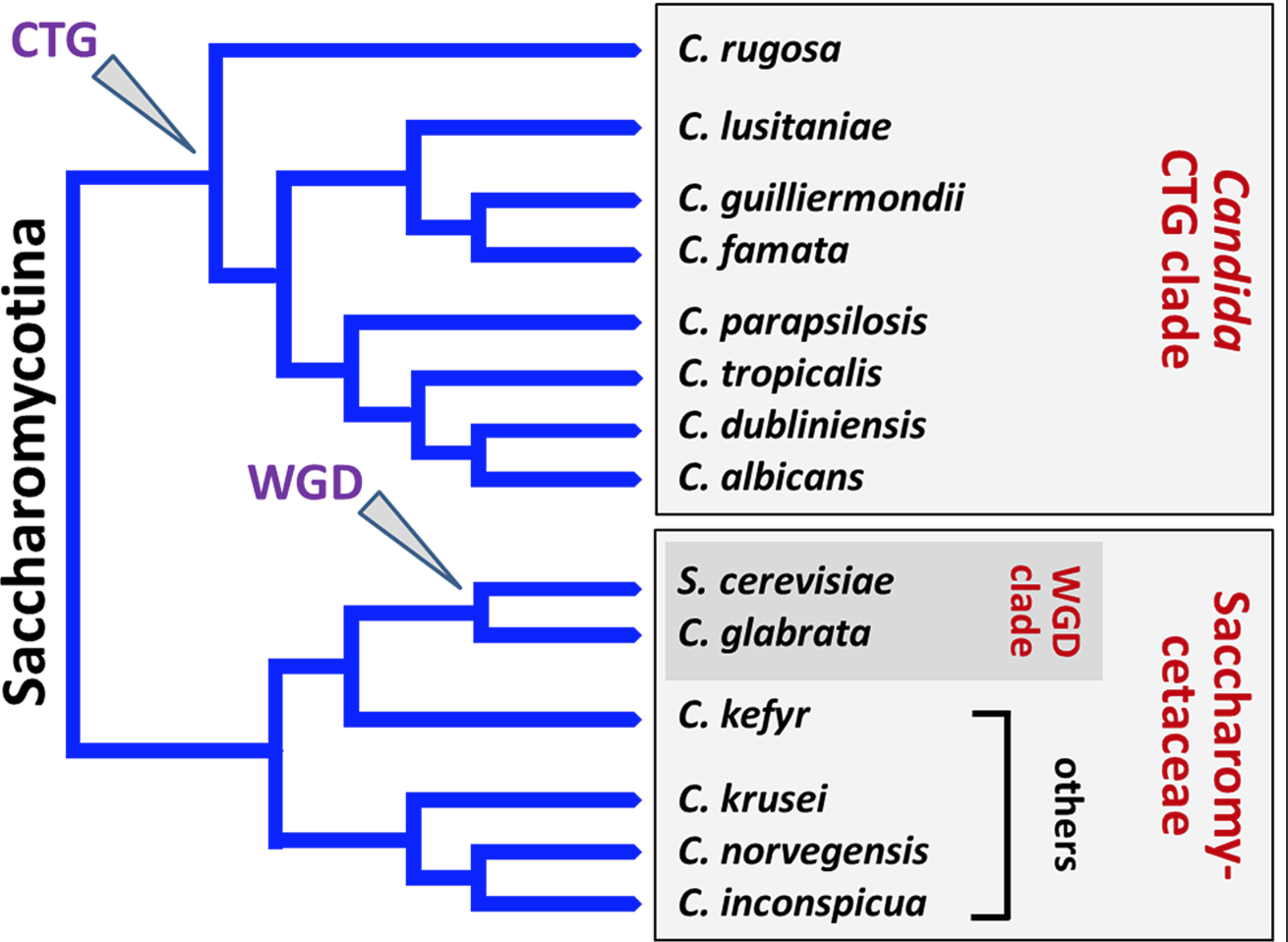
 Les levures du genre Candida sont des champignons faisant partie de l’embranchement des *Ascomycota,*  de la classe des *Saccharomycetes,* de l’ordre des *Saccharomycetales* et de la famille des *Saccharomycetaceae.* Ces levures sont le pathogène fongique le plus commun chez l’Homme1. Retrouvées dans la flore microbienne et dans les muqueuses, jusqu’à 71% d’individus sains en sont porteurs2. Généralement commensales, ces levures peuvent devenir opportunistes en entrainant des infections chez des individus présentant certaines prédispositions (âges extrêmes, sous médication…) ou immunodéprimés3. Ces infections se divisent en trois groupes majeurs : cutané, muqueux ou systémique4. Aux Etats-Unis, les espèces *Candida* sont la 4ème cause d’infections nosocomiales du système sanguin et entrainent plus de 40% de mortalité selon des études épidémiologiques1. Chaque année, presque 1,5 millions de personnes meurent d’une infection fongique invasive malgré des antifongiques disponibles5. Cependant, ceux-ci restent limités avec l’émergence de souches résistantes suite à des traitements de longues durées ou à de la prophylaxie6. Il est donc très important d’identifier et de mieux comprendre les mécanismes qui régissent l’interaction hôte-*Candida* afin de trouver de nouvelles cibles thérapeutiques qui pourront être développées en nouveaux traitements. Ici, trois espèces connues du genre *Candida*, plus ou moins proches phylogénétiquement, sont mises à l’étude ; C. *albicans,* responsable de la moitié de ces candidémies (≈50%) ; les espèces non-albicans (NAC), sont en pleine recrudescence, d’où l’étude de *C*. *glabrata* (≈15%)*,* et de *C. lusitaniae* (1 à 3%)

Figure 1 : **Représentation schématique illustrant la phylogénie des NAC** (clade CTG et WGD). WGD : Whole Genome Duplication d’après Papon et *al*. 2013 PLoS

C. *albicans* et *C*. *glabrata* appartiennent au clade CTG, c’est à dire qu’ils traduisent le codon CTG en sérine au lieu de leucine. *C. glabrata* est assez éloignée des deux autres espèces, se rapprochant plus de *Saccharomyces cerevisiae*, appartenant au clade WDG3,4.

### *Candida albicans*

*C. albicans* est une levure commensale colonisant les muqueuses des voies digestives, gastro-intestinales et urogénitales chez un grand nombre de mammifères7. Elle est l’espèce la plus étudiée car la plus fréquemment isolée et responsable de la moitié des candidémies en Europe4. C’est une levure diploïde. Elle est polymorphique, pouvant passer de la forme levure à celle d’hyphe ou de pseudohyphe8.

### *Candida glabrata*

Egalement commensale, cette levure se retrouve dans les voies gastro-intestinales et urogénitales. C’est le second ou troisième agent responsable de candidoses invasives (15-20%)9 selon la localisation géographique. Son génome est haploïde. Elle existe seulement sous la forme de levure8.

### *Candida lusitaniae*

*C. lusitaniae* est une levure environnementale sans niche écologique spécifique10 qui peut être rencontrée en milieu hospitalier.Elle peut être isolée à partir de différents substrats, terres, eaux, plantes, voies gastro-intestinales d’animaux10.Il s’agit du modèle d’étude du laboratoire, elle est également haploïde, facilitant les approches par génétique inverse. Elle a la capacité de former des pseudohyphes et possède un cycle sexuel. Elle est responsable d’1 à 3% des candidoses invasives10.

## Intéraction hôte-*Candida*

### Immunité anti-Candida

Les levures *Candida* présentes dans l’organisme sont sous le contrôle du système immunitaire. Une infection à *Candida* survient lorsqu’il y a une défaillance de celui-ci, et/ou un déséquilibre entre les facteurs de virulence de la levure et les facteurs de défenses de l’hôte11. Nous pouvons citer parmi les facteurs de risque des candidoses les antibiotiques, l’humidité ou pancréatite. La majorité des candidoses invasives sont causées par souche endogène, dont l’individu est porteur. Cette colonisation peut être due à un défaut du système immunitaire et/ou une rupture des barrières, soit de manière naturelle (plaies sur la peau ou muqueuses), soit artificielle, suite à l’utilisation de matériels médicaux (cathéters..) ou de pratiques médicales (chirurgie, thérapies immunosuppressives…)2. L’infection invasive est un processus comportant 4 étapes : adhésion et colonisation, invasion tissulaire, dissémination (candidémie), extravasation et pérennisation tissulaire.

La 1ère ligne de défense face à *Candida* est l’immunité innée comprenant les macrophages et neutrophiles capables de phagocytose2,3. Ces cellules reconnaissent les levures grâce aux Pattern Recognition Receptors (PRRs) présents à leurs surfaces1. Ceux-ci reconnaissent des Pathogen-Associated Molecular Pattern (PAMPs)1, qui, chez la levure, sont les principaux composants de la paroi. Les PRR associés font partie de deux classes : les Toll-like Receptor (TLR), avec les TLR 2 et 4, et les C-type Lectin Receptor (CLR), avec les Dectin-1 et 2 et les Mannose Receptor (MR)3,5.

La levure est reconnue par les macrophages dans les tissus, et par les neutrophiles dans le sang. Les phagocytes les internalisent dans le phagosome qui, lors de sa maturation, va fusionner avec le lysosome pour former le phagolysosome, environnement très défavorable pour la levure (pH acide, enzymes hydrolytiques, stress oxydatif, peptides antimicrobiens)1.

Les principaux mécanismes des phagocytes contribuant à la défense de l’hôte sont :

* Le burst oxydatif (production de Reactive Oxygen Species (ROS) et de Reactive Nitrogen Species (RNS)): les phagocytes produisent une grande quantité d’oxydants suite à leur activation. La production de ROS est initiée par l’assemblage et l’activation de la NADPH oxydase dans les phagocytes. Cela déclenche le burst oxydatif en générant des anions superoxide (O2.-) qui sont ensuite convertis en peroxyde d’hydrogène et en radical hydroxyl3,12. La myéloperoxydase est une enzyme, très abondante chez les neutrophiles, qui utilise le peroxyde d’hydrogène comme substrat pour la génération d’acide hypochlorique3.
* Les Neutrophils Extracellular Traps (NETs) : les neutrophiles utilisent des strucutres extracellulaires de chromatine entourées protéines antimicrobiennes qui inhibent la croissance de *Candida*. Ils possèdent des propriétés candidacides. Ce sont des structures extracellulaires de chromatine*.* La calprotectine est la protéine antifongique1 qui lie les cations divalents comme le Zn2+ ou le Mn2+, les rendant indisponibles pour les levures3.
* Induction de l’apoptose : Les macrophages déclenchent un phénomène d’apoptose sur les levures13.
* Mécanismes non oxydatifs activés par l’acidification du phagolysosome. Les enzymes lytiques (hydrolases) et des composés antimicrobiens (défensines) dégradent les pathogènes.

### Les facteurs de virulence de *Candida*

Face à cette immunité, les levures *Candida* possèdent elles aussi des moyens de défense.

* L’adhérence aux cellules épithéliales
* La sécrétion d’hydrolases et de phospholipases permet aux levures d’utiliser les composants de l’hôte pour sa nutrition et croissance 2. Les Secreted Aspartyl Protease (SAPs) endommagent le tissu pour favoriser adhésion, invasion des organes et destruction des facteurs immunitaires de l’hôte. Les phospholipases facilitent l’invasion de l’hôte par dégradation des composants de la membrane cellulaire2.
* Pour faire face aux ROS, la levure sécrète des enzymes anti-oxydantes telles que les Super Oxyde Dismutase (SOD), comme Sod5, qui vont dismuter l’anion superoxyde en peroxyde d’hydrogène. Celui-ci, toujours hautement toxique, sera dégradé par des catalases de la levure (Cat1) ou des peroxydases sous forme d’eau et d’oxygène.
* La morphogénèse est la capacité de la levure à passer d’une forme levure à une forme filamenteuse. Elle aide à la perforation de la membrane macrophagique et donc à l’échappement à la phagocytose et à la dissémination.
* Les phospholipomannanes, à la surface des levures, contribuent à la survie à l’intérieur des macrophages par induction de leur apoptose.
* La formation de biofilms augmente la résistance aux antifongiques et aux phagocytes mais donne également une source continue d’inoculum capable de se répandre dans le flux sanguin.
* Echappement au système immunitaire : les levures peuvent rester à l’intérieur du macrophage pendant 2 à 3 jours sans l’endommager ou induire son apoptose9. Une sorte de cheval de Troie pour passer les barrières épithéliales et se disséminer dans l’organisme et permettre son échappement au système immunitaire9.
* Camouflage des cibles aux PRR : les levures peuvent masquer l’exposition des β-glucanes par des mannoprotéines qui empêchent la reconnaissance par la Dectin-114.

### Les stratégies communes et spécifiques à chaque espèce étudiée

Lorsqu’elles sont phagocytées, les levures *Candida* sont donc soumises à un environnement particulièrement hostile. Elles mettent en place des stratégies d’échappement ou de survie afin de se libérer au plus vite des phagocytes. Des études de transcriptomique principalement montrent que les capacités de défenses des *Candida* dans les heures suivant leur internalisation. Ces publications décrivent des stratégies qui peuvent être communes ou spécifiques.

*C. albicans* et *C. lusitaniae,* une fois phagocytées, sont capables de former des filaments ou pseudo-filaments aptes rompre la membrane des macrophages. *C. glabrata,* en est incapable, mais peut se diviser activement jusqu’à l’éclatement du phagocyte8,15.

*C. albicans* et *C. glabrata* altèrent le processus de maturation du phagosome. *C. albicans* recycle les marqueurs des différentes étapes de la maturation (LAMP1, Cathepsin D..). Il a été montré qu’il était capable, grâce au catabolisme des acides aminés, de produire de l’ammoniac pour neutraliser le pH du phagosome. Cela a également été prouvé *in vitro,* chez *C. glabrata.* Ces deux levures utilisent aussi des enzymes anti-oxydantes (SOD, catalase) et la production de pigment pour contrer le burst oxydatif8.

Il a été montré chez *C. albicans* internalisée par les phagocytes, une activation du métabolisme des lipides et des acides gras (β-oxydation et cycle du glyoxylate) et une répression du métabolisme du glucose7. La carence en glucose étant présente chez toutes les *Candida* lors de l’internalisation, il est envisageable que ces stratégies soient présentes chez d’autres espèces du genre, mais cela n’a pas été démontré.

Il existe de la même manière des mécanismes d’échappement spécifiques à chaque espèce. *C. albicans* est connue pour avoir la stratégie la plus agressive au contraire de *C. glabrata* et *C. lusitaniae,* elles, plus discrètes8. *C. glabrata* est capable de persister à l’intérieur des cellules hôtes. Elle est mieux adaptée aux pH acides que *C*. *albicans* et survit grâce à l’autophagie8. *C. glabrata*, étant plus « silencieuse », induit une réponse immunitaire des macrophages moins forte lors, par exemple, de la sécrétion des cytokines8. *C. lusitaniae* évite la phagocytose macrophagique par formation de chaînettes de levures, moins bien reconnues15.

La plupart des études transcriptomiques de ces résistances ont été réalisées chez *C. albicans.* Cependant, il faut rappeler qu’à l’intérieur d’un clade, la distance génétique qui sépare deux espèces peut être aussi grande que la distance entre l’Homme et le poisson4. L’extrapolation des informations découvertes chez *C. albicans* aux autres espèces du genre est donc très risquée. C’est pour cela qu’il est important d’identifier des mécanismes pour chaque espèce *Candida*. Les approches par protéomique sont un moyen pour y arriver sachant qu’elles ont déjà été utilisées avec succès dans la littérature7 et au laboratoire (données non publiées) dans l’étude de C. albicans phagocytée par les macrophages. De plus, dans le laboratoire, l’étude protéomique de *C. albicans* a déjà été analysée mais l’étude du protéome de de *C. glabrata* et de *C. lusitaniae* restent à faire*.*

# Projet de Recherche

Les espèces *Candida* étudiées ici sont différentes en terme de morphologie, de stratégie de colonisation et de physiopathologie. Cependant, malgré ces différences de tactiques, ces 3 espèces, en devenant pathogènes, arrivent au même but ; survivre et proliférer durant une infection qui peut être fatale chez l’Homme. D’où l’importance de comparer les similarités et différences dans les stratégies de survie et d’échappement.

L’objectif de ce travail est d’identifier des mécanismes de résistances chez 3 espèces de *Candida* (*C. albicans, C. glabrata, C. lusitaniae*) phagocytées par les macrophages. Pour cela, nous avons choisi de réaliser une analyse protéomique.

## Précédente étude

### Modèle d’infection *in vitro*

Pour étudier l’intéraction entre les levures et les phagocytes, il a été développé, au laboratoire, un modèle d’infection des macrophages par les levures15. La veille de l’infection, les levures ont été cultivées dans du Yeast extract Peptone Dextrose (YPD) et parallèlement les macrophages (lignée murine J774) ont été mis à adhérer en flasque de culture et incubés pendant la nuit. Le lendemain, les macrophages ont été infectés par les levures avec une certaine Multiplicity Of Infection (MOI), le contrôle correspondant aux levures en culture dans les mêmes conditions en absence de macrophages.

Les levures contrôles et internalisées ont été isolées trois heures après l’infection afin de réaliser l’extraction des protéines. Les expériences ont été réalisées en triplicat pour chaque condition.

Les macrophages ont été lysés par du Triton x100 puis les levures ont été lavées avant l’extraction protéique.

Les levures ont été lysées, puis après centrifugation, les protéines obtenues ont été dosées et conservées à -20°C pour une analyse protéomique.

### Analyse protéomique

Les extraits protéiques préparés ont été confiés à une plateforme de protéomique à l’Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL) en Suisse. Les extraits ont été soumis à une double digestion afin d’obtenir des peptides. Il a ensuite fallu identifier puis quantifier ces protéines grâce à une technique de chromatographie liquide couplée à de la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS). Une expérience pilote sur *C. albicans* avait été réalisée, avec un marquage diméthyle, puis, suite à l’acquisition par la plateforme d’un spectromètre plus sensible, la méthode Label-Free a été utilisée pour les trois espèces. Les protéines identifiées comme étant statistiquement dérégulées ont été sélectionnées et analysées par bioinformatique.

### Analyse Bioinformatique

Les résultats de la protéomique de *C. albicans* ont été analysés manuellement. Chaque protéine identifiée comme statistiquement dérégulée a été comparée par BLAST (Basic Alignment Search Tool) sur la base de l’homologie de séquences en utilisant les bases de données Uniprot (<http://www.uniprot.org>), ou CG DataBase (<http://www.candidagenome.org>), afin de attribuer une fonction putative aux protéines non caractérisées. Les résultats préliminaires ont permis d’identifier une inhibition de la transcription et de la traduction et du métabolisme du carbone, ainsi qu’une induction de la β-oxydation, et du cycle du glyoxylate. Cette expérience a donné des résultats compatibles avec les données bibliographiques7 et les données préalablement obtenues au laboratoire.

## Projet de Stage

### Analyse Comparative

L’analyse du protéome de *C. glabrata* et *C. lusitaniae* a mis en lumière plus de 1000 protéines dérégulées. Ces données brutes seront analysées sur plusieurs niveaux d’où la nécessité de développer divers outils bioinformatiques. Le génome de notre modèle d’étude, C. *lusitaniae* 6936, a récemment été séquencé et annoté en collaboration avec P. Durrens10. Un tableau récapitulatif des résultats BLASTp de chaque ORF de *C.* *lusitaniae* identifiant les plus proches orthologues chez d’autres levures (les trois *Candida* étudiée, *S. cerevisiae* et *Debaromyces hansenii*) a été construit en se basant sur des méthodes classiques en bioinformatique pour la prédiction des orthologues (BDBH : meilleurs hits réciproques).

La comparaison de réseau métabolique est un problème fondamental en Bioinformatique et présente plusieurs applications allant l’identification des fonctions qui leur sont communes/spécifiques à la compréhension de différences essentielles dans le phénotype (core/pan génome). Ainsi, il est crucial de pouvoir  identifier certains enzymes en analysant l’impact de leur absence/présence dans leurs réseaux métaboliques, et de relier ces informations au phénotype pour tendre vers la biologie des systèmes. D’un point de vue bioinformatique, il s’agit de comprendre la combinatoire des interactions moléculaires et les liens entre cette combinatoire et l’émergence d’un comportement commun ou atypique de bactéries. En effet, cette thématique nous permet d’appréhender le fonctionnement cellulaire dans son ensemble et de mieux comprendre le rôle des différents enzymes dans leur contexte métabolique en étudiant parallèlement leur expression.

L’ensemble de ces différentes approches pourra être appliquées à la comparaison du métabolisme de bactéries. En effet, la collaboration avec une bioinformaticienne (P. Thébault, responsable du M2 Bio-Informatique de Bordeaux) biologistes, nous permettra de mener des analyses de comparaison sur le métabolisme des trois candida en lien avec leur variation d’expression (identification du core ou pan génome présentant des variations d’expression). L’objectif est d’identifier les meilleurs gènes candidats pour expliquer un comportement physiologique conservé ou atypique.

Concrétement, un 1er niveau d’analyse se fera en exploitant le tableau de correspondance des orthologies afin d’attribuer à chaque protéine une fonction putative mais également d’identifier les blocs de gènes (core ou pan bloc) dont l’expression varient pour 1 à 3 candida. Un second niveau d’analyse sera d’identifier les voies métaboliques dérégulées lors de la phagocytose macrophagique pour chaque espèce. La base de données KEGG (<http://www.genome.jp/kegg/>) sera utilisée pour identifier les voies métaboliques dérégulées et l’enrichissement des catégories fonctionnelles sera étudié par la base de données DAVID (<https://david.ncifcrf.gov>). Cette étape visera à comparer les résultats obtenus pour identifier les protéines et mécanismes dérégulés communs et spécifiques aux 3 espèces.

Ces questions scientifiques seront également exploitées pour définir un sujet de programmation (dans le de *l’UE Conception d'un Projet de Recherche et de Développement* pour un groupe de 4 étudiants en Master 1 Bio-Informatique (de février/mars à mai 2018) visant à développer un outils de visualisation (i) combinant les résultats des approches comparatives à (ii) l’annotation fonctionnelle de groupes de gènes exploitant les informations issues des bases de données publiques.

L’étape suivante sera de sélectionner les protéines d’intérêts qui feront l’objet d’une analyse fonctionnelle approfondie. Nous nous intéresserons aux protéines communes aux 3 espèces et présentant une variation d’expression, mais sans exclure la possibilité d’étudier des protéines spécifiques au clade CTG. Il serait intéressant étudier le rôle d’une protéine à la fonction inconnue, qui serait fortement induite et d’une protéine à la fonction connue mais dont le rôle dans la virulence n’a pas encore été démontré.

### Analyse Fonctionnelle

Pour étudier le rôle des protéines sélectionnées, nous allons réaliser des mutants KO, sur le modèle d’étude du laboratoire, *C. lusitaniae* 6936 plus facile d’étude car haploïde. Nous allons utiliser le système *URA3* Blaster, il faut donc une souche récipiente possédant un marqueur d’auxotrophie Δ*ura3*. Les levures seront préalablement traitées à l’acétate de lithium avant d’être transformées par électroporation. La cassette de délétion est constituée du marqueur de sélection *URA3* entouré des parties amont et aval du gène d’intérêt. Cela permettra une recombinaison homologue, délétant ainsi le gène. Il y aura ensuite sélection des mutants *URA3*+ sur un milieu dépourvu en uracile.

Dans le but d’éliminer *URA3* du locus du gène muté, une deuxième transformation sera réalisée avec une cassette uniquement composée des parties amont et aval. Les levures seront étalées sur un milieu de culture complémenté 5FOA (5-Fluoroorotic acid) afin de sélectionner les levures ayant perdues *URA3*. Une transformation supplémentaire permettra de remettre *URA3* à son locus.

Enfin, une copie sauvage du gène sera ré-introduite dans le mutant afin de vérifier le retour à un phénotype sauvage.

Toutes les transformations seront analysées par Southern Blot ou PCR afin valider les mutants.

### Criblage phénotypique

L’étape suivante est de voir l’effet de la délétion sur le phénotype de la levure en intéraction avec les macrophages en utilisant le modèle d’infection15. L’utilisation de marqueurs fluorescents spécifiques permet de suivre simultanément chaque population de cellules lors de l’intéraction. Les phagocytes sont marqués par un anticorps couplé à un fluorochrome au niveau de leur membrane (APC-CD16). Leur activité métabolique est mise en évidence par la calcéine. Les levures sont marquées au niveau de leur paroi par du calcofluor.

L’intéraction entre les levures et les macrophages est suivie en plaque de culture cellulaire jusqu’à 24h post-infection.

* Le cytométrie en flux permet de suivre la survie des macrophages (APC-CD16+, Calcéine+) mais nous permet également de déterminer la proportion de macrophages engagés en phagocytose (APC-CD16+, Calcéine+, Calcofluor+)
* La fluorimétrie classique nous permet de connaître le taux d’internalisation des levures par les macrophages grâce à une méthode de Quenching par le Bleu Trypan qui va éteindre la fluorescence du calcofluor sur les levures extracellulaires.
* La multiplication des levures à l’intérieur des macrophages est évaluée par dénombrement sur cellule de Malassez.
* La survie des levures internalisées est évaluée par une technique d’étalement de 100 UFC (Unité Formant Colonie) sur milieu riche.

# Résultats attendus

L’analyse protéomique a permis d’identifier des protéines dérégulées lorsque la levure est en condition de phagocytose macrophagique, comme des études l’ont montré chez *C. albicans.* Grâce à l’analyse combinée de la protéomique et de la bioinformatique, il sera possible d’identifier les mécanismes d’échappement communs et spécifiques à *C. albicans, C. glabrata* et *C. lusitaniae.* En effet, l’étude du protéome complet devrait permettre d’obtenir une vue d’ensemble des stratégies de survie et de virulence mises en œuvre par *Candida* lors de la phagocytose macrophagique*.* Ceci pourrait ouvrir la possibilité d’identifier une nouvelle cible thérapeutique commune aux espèces étudiées qui pourrait s’avérer intéressante dans la recherche de nouveaux antifongiques.

Cette analyse protéomique sert de point de départ aux futures analyses fonctionnelles qui restent indispensables pour démontrer le rôle de chaque protéine dans la virulence.

REFERENCES

1. **Cheng S-C, Joosten LAB, Kullberg B-J, Netea MG**. 2012. Interplay between Candida albicans and the mammalian innate host defense. Infect Immun 80:1304–1313.

2. **Mavor AL, Thewes S, Hube B.** 2005. Systemic fungal infections caused by Candida species: epidemiology, infection process and virulence attributes. Curr Drug Targets 6:863–874.

3**. Miramón P, Kasper L, Hube B.** 2013. Thriving within the host: Candida spp. interactions with phagocytic cells. Medical Microbiology and Immunology 202:183–195.

4. **Papon N, Courdavault V, Clastre M, Bennett RJ**. 2013. Emerging and Emerged Pathogenic Candida Species: Beyond the Candida albicans Paradigm. PLoS Pathogens 9:e1003550.

5. **Erwig LP, Gow NAR.** 2016. Interactions of fungal pathogens with phagocytes. Nature Reviews Microbiology 14:163–176.

6. **Arendrup MC, Patterson TF**. 2017. Multidrug-Resistant Candida: Epidemiology, Molecular Mechanisms, and Treatment. J Infect Dis 216:S445–S451.

7. **Fernández-Arenas E, Cabezón V, Bermejo C, Arroyo J, Nombela C, Diez-Orejas R, Gil C**. 2007. Integrated Proteomics and Genomics Strategies Bring New Insight into *Candida albicans* Response upon Macrophage Interaction. Molecular & Cellular Proteomics 6:460–478.

8. **Brunke S, Hube B**. 2013. Two unlike cousins: Candida albicans and C. glabrata infection strategies. Cell Microbiol 15:701–708.

9. **Kasper L, Seider K, Hube B.** 2015. Intracellular survival of *Candida glabrata* in macrophages: immune evasion and persistence. FEMS Yeast Research 15:fov042.

10. **Durrens P, Klopp C, Biteau N, Fitton-Ouhabi V, Dementhon K, Accoceberry I, Sherman DJ, Noël T**. 2017. Genome Sequence of the Yeast Clavispora lusitaniae Type Strain CBS 6936. Genome Announc 5.

11. **Hube B**. 2004. From commensal to pathogen: stage- and tissue-specific gene expression of Candida albicans. Current Opinion in Microbiology 7:336–341.

12. **Frohner IE, Bourgeois C, Yatsyk K, Majer O, Kuchler K.** 2009. Candida albicans cell surface superoxide dismutases degrade host-derived reactive oxygen species to escape innate immune surveillance. Mol Microbiol 71:240–252.

13. **Cabezón V, Vialás V, Gil-Bona A, Reales-Calderón JA, Martínez-Gomariz M, Gutiérrez-Blázquez D, Monteoliva L, Molero G, Ramsdale M, Gil C.** 2016. Apoptosis of Candida albicans during the Interaction with Murine Macrophages: Proteomics and Cell-Death Marker Monitoring. J Proteome Res 15:1418–1434.

14**. Bain JM, Louw J, Lewis LE, Okai B, Walls CA, Ballou ER, Walker LA, Reid D, Munro CA, Brown AJP, Brown GD, Gow NAR, Erwig LP**. 2014. Candida albicans hypha formation and mannan masking of β-glucan inhibit macrophage phagosome maturation. MBio 5:e01874.

15. **Dementhon K, El-Kirat-Chatel S, Noël T.** 2012. Development of an In Vitro Model for the Multi-Parametric Quantification of the Cellular Interactions between Candida Yeasts and Phagocytes. PLoS ONE 7:e32621.

Articles présentés au 1er Semestre

1. **Rakotomalala M, Pinel-Galzi A, Mpunami A, Randrianasolo A, Ramavovololona P, Rabenantoandro Y, Fargette D.** 2013. Rice yellow mottle virus in Madagascar and in the Zanzibar Archipelago; island systems and evolutionary time scale to study virus emergence. Virus Res 171:71–79.

2. **Deroubaix A, Osseman Q, Cassany A, Bégu D, Ragues J, Kassab S, Lainé S, Kann M.** 2015. Expression of viral polymerase and phosphorylation of core protein determine core and capsid localization of the human hepatitis B virus. J Gen Virol 96:183–195.

3. **Miyake T, Hosaka N, Cui W, Nishida T, Takaki T, Inaba M, Kamiyama Y, Ikehara S.** 2009. Adult thymus transplantation with allogeneic intra-bone marrow-bone marrow transplantation from same donor induces high thymopoiesis, mild graft-versus-host reaction and strong graft-versus-tumour effects. Immunology 126:552–564.