DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **27 septembre 2019**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **LUIZET Jean-Baptiste**

Titre de la thèse : *« Modulation de la réponse cellulaire par des effecteurs de Brucella abortus »*

Résumé

Brucella abortus est une bactérie pathogène appartenant au genre *Brucella* responsable d'une zoonose ré-émergente causant plus de 500 000 décès par an. *Brucella* est une bactérie à Gram négative facultative intracellulaire capable d'infecter un grand spectre de cellules différents en entrant par phagocytose ou macropinocytose. Une fois à l'intérieur de la cellule, *Brucella* est retrouvée dans une vacuole doublement membranée appelée *Brucella*-containing vacuole (BCV). *Brucella* va alors interagir partiellement avec les différents compartiments endosomaux et lysosomaux afin d'établir sa niche réplicative au sein du réticulum endoplasmique est un aspect clé de sa virulence. Pour cela il a été démontré que *Brucella abortus* possède le système de sécrétion de type IV démontré pour être un facteur de virulence majeur très répandu chez de nombreuses bactéries pathogènes. Ce sont les protéines injectées (effecteurs) par ce système de sécrétion qui par leur large mode d'action permettent à *Brucella* de contrôler différentes voies cellulaires de son hôte. Mon projet de thèse consiste à caractériser un effecteur identifié pour être secrété par ce système de sécrétion de type IV (SST4). Nous avons appelé cet effecteur *Brucella* secreted protein L (BspL). Nous avons pu par différentes approches biologiques déterminer son mode d'action chez les cellules hôtes infectées ainsi que son importance pour le cycle intracellulaire de la bactérie. Nous avons en effet vu que cet effecteur localisait au sein du réticulum endoplasmique, organelle majeure de la cellule eucaryote, et induisait du stress. Ce stress est ressenti par la cellule grâce à différents senseurs cellulaires qui vont converger vers 9 l'activation d'une réponse cellulaire appelée «UnfoldedProtein Response». Cette voie cellulaire va par différents mécanismes moléculaires tenter de contrer ce désordre induit au sein du réticulum afin de restaurer une homéostasie cellulaire. Cependant en recherchant de potentielles de notre effecteur BspL nous avons identifié Homocysteine-responsive endoplasmic reticulum-resident ubiquitin-like domain member 1 (Herp) une protéine impliquée dans de nombreux processus de régulations physiologiques du réticulum en cas de stress comme la dégradation associée au réticulum (ERAD). Nous avons donc par la suite démontré que l'action de BspL n'était pas uniquement d'induire

du stress mais d'augmenter la capacité d'action de l'ERAD au sein de la cellule. Par ailleurs nous avons vu que BspL était important pour *Brucella* dans le contrôle de la cinétique de formations de ses vésicules de sortie de la cellule afin de pouvoir faire son cycle sans sortir prématurément. Ainsi l'identification de cet effecteur a permis de mettre en évidence l'importance de l'ERAD pour la première fois dans la pathogénie de *Brucella*. De plus cet effecteur est le premier à être identifié pour participer dans la régulation des vacuoles de sortie de Brucella.

En parallèle nous avons vu que BspL impactait d'autres organites qui sont les mitochondries en fragmentant la connectivité de ce réseau mitochondrial. Aujourd'hui nous savons que les mitochondries et le réticulum sont étroitement connectés notamment avec l'implication du réticulum dans le processus de fission mitochondriale. Par ailleurs il est également connu que l'induction de stress par des agents physiques ou chimiques également fragmente le réseau mitochondrial. Nous avons néanmoins vu que le processus de fragmentation mitochondriale des mitochondries étaient indépendants du stress induit par BspL. Ces résultats ont été également confirmés en infection avec la comparaison d'une souche sauvage et mutante pour le gène codant pour BspL. En conclusion nous avons identifié un effecteur de *Brucella* associé au détournement de diverses fonctions au sein de la cellule. Il a permis de mettre en évidence l'importance du contrôle de l'ERAD pour contrôler la cinétique de réplication de la bactérie. Par ailleurs le fait que BspL soit également associé aux mitochondries semblent indiquer que l'effecteur pourrait avoir un rôle différentiel au cours du temps pendant l'infection.