

**DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT**

**(Arrêté du 25 mai 2016)**

Date de la soutenance : **8 novembre 2018**

Nom de famille et prénom de l’auteur : **BENAOUDIA Sacha**

Titre de la thèse : « Détection du LPS cytosolique : un crible CRISPR/Cas9 pangénomique identifie IRF2 comme régulateur de l'inflammasome non-canonique caspase-4».



**Résumé**

Le lipopolysaccharide (LPS), un composant de la membrane des bactéries à Gram-négatif, active l’inflammasome non-canonique constitué chez l’homme des caspase-4/5 et chez la souris de la caspase-11 ainsi que de la protéine effectrice GasderminD. Chez l’homme nous ne savons toujours pas s’il y a d’autres acteurs impliqués dans cette voie de signalisation. Notre équipe a précédemment démontré que le LPS sous-acylé de *Francisella novicida* active la caspase-4 humaine mais pas la caspase-11 murine. Cette différence inexpliquée nous a fait émettre l’hypothèse qu’un cofacteur pourrait faciliter la détection du LPS de *F. novicida* dans les cellules humaines. Afin de tester notre hypothèse, et de manière générale d'identifier de nouvelles protéines impliquées dans cette voie de signalisation, nous avons réalisé un crible CRISPR/Cas9 pan-génomique sur la base de la survie de monocytes humains de la lignée U937 après transfection de LPS. Notre crible a identifié IRF2 comme étant l’unique protéine impliquée en plus de GasderminD et caspase-4. Les monocytes *IRF2-/-* étaient complètement résistants à la transfection de LPS et affichaient un niveau de caspase-4 très diminué. Nos résultats démontrent qu’IRF2 est le principal régulateur de l’expression de caspase-4 à l’état basal. De manière intéressante, après un traitement par l’interféron ou une différentiation en macrophages IRF2 n’est plus requis pour la pyroptose. A la place IRF1 et IRF2 coopèrent pour réguler le niveau de caspase-4 et donc la sensibilité au LPS dans le cytosol. Nos travaux ont permis d’identifier les mécanismes de régulation de caspase-4 à l’état basal, en présence d’interféron, et dans des macrophages différenciés. Nous avons montré que IRF1/IRF2 sont des régulateurs clés de la détection du LPS cytosolique et donc du choc septique TLR-4 indépendant.