



Université Claude Bernard



# DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **15 décembre 2021**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Monsieur HARDY Léo**

Titre de la thèse : « *Analyse génétique exhaustive du mécanisme de transformation naturelle chez *Legionella pneumophila* et caractérisation d'un nouvel acteur conservé chez les bactéries Gram-négative* »

## Résumé



La transformation naturelle est un mécanisme de transfert horizontal de gène très répandu chez les bactéries. C'est l'un des moteurs de la diversité bactérienne qui peut conduire à l'émergence de nouvelles bactéries pathogènes et de nouvelles résistances aux antibiotiques. La transformation naturelle désigne la capacité de certaines bactéries dites « transformables » à capturer de l'ADN nu exogène et de l'intégrer dans leur génome par recombinaison homologe. Elle met en jeu de nombreux acteurs protéiques regroupés sous le nom de « machinerie d'import de l'ADN ». Cette machinerie est largement conservée chez les différentes espèces transformables. Elle n'est exprimée que lorsque la bactérie est dans un état génétiquement programmé et le plus souvent transitoire qu'on appelle « la compétence ». Les conditions d'induction ainsi que les voies de régulation qui aboutissent à cet état physiologique particulier varie largement en fonction des espèces transformables. Malgré des avancées considérables ces dernières années, les situations qui stimulent la transformation naturelle restent encore mal comprises. De même, le fonctionnement de la machinerie d'import n'est que partiellement élucidé. Tous les composants ne sont pas encore identifiés et il est possible que des processus fondamentaux de la cellule participent au fonctionnement du système.

Mon premier objectif était d'identifier de façon exhaustive tous les gènes requis pour la transformation naturelle de *Legionella pneumophila*, une bactérie gram négative à multiplication intracellulaire. A cette fin, j'ai mis au point une méthode de Tn-seq chez ce pathogène. Le Tn-seq est une méthode puissante qui permet, à partir d'une banque de mutants insertionnelles, d'identifier de façon exhaustive les mutants des gènes ayant perdu une fonction donnée. Les étapes de construction de la banque de *L. pneumophila* jusqu'à l'analyse bioinformatique des données de Tn-seq, jamais réalisé jusqu'alors pour cette espèce, ont fait l'objet d'une publication technique. L'analyse des données de Tn-seq issue de cribles de transformation m'a permis de confirmer le rôle de la plupart des gènes déjà connus pour être impliqués dans la transformation naturelle chez cette espèce et a permis de préciser le rôle de pilines mineures et majeures. Cette analyse m'a surtout aussi permis d'identifier un nouvel acteur : YraN, conservé chez la majorité des espèces gram négative et jusqu'alors de fonction inconnue. La caractérisation de ce nouvel acteur par des approches génétiques et moléculaires a permis de montrer qu'YraN était une nucléase impliquée dans les voies moléculaires dédiées à la recombinaison de l'ADN transformant