



Université Claude Bernard



# DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **07 octobre 2022**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame VALEVA Stanimira**

Titre de la thèse : « *Recrutement des Guanylate-Binding Proteins sur Francisella novicida dans les macrophages humains* »



## Résumé

*Francisella novicida* est un pathogène cytosolique professionnel qui est internalisé par les cellules hôtes (macrophages, neutrophiles) par phagocytose. *F. novicida* échappe du phagosome grâce aux effecteurs sécrétés par un système de sécrétion de type 6 non-conventionnel. *F. novicida* se réplique abondamment dans le cytosol des cellules infectées. Le lipopolysaccharide (LPS) de *Francisella* porte une structure atypique formée par plusieurs enzymes modifiantes le LPS, ce qui permet à la bactérie d'éviter la détection par des récepteurs de l'immunité liant le LPS tels que le TLR4 ou la caspase murine pro-inflammatoire caspase-11. Dans le cytosol murin, *F. novicida* est détectée par le senseur d'ADN Aim2. L'orthologue humain de la caspase-11, la caspase-4, détecte faiblement le LPS de *F. novicida*. L'activation de la caspase-4 chez l'Homme et de Aim2 chez la souris nécessite la libération de ligand de *F. novicida*, processus médié par les Guanylate-Binding Proteins (GBPs).

Les GBPs sont des GTPases inductibles aux interférons qui jouent un rôle clé dans les réponses immunitaires contre les pathogènes intracellulaires (virus, bactéries, protozoaires). Sept GBPs sont présentes chez l'Homme. Malgré une haute homologie de séquence, des différences subtiles parmi les GBPs se traduisent dans des divergences fonctionnelles qui sont encore largement incomprises. Une étape clé pour l'activité antimicrobienne des GBPs vers les bactéries cytosolique est la formation de complexes supramoléculaires à la surface bactérienne. De tels complexes sont formés quand GBP1 lie le LPS de *Shigella* ou de *Salmonella* et recrute ensuite GBP2, GBP3 et GBP4.

Puisque *F. novicida* porte un LPS atypique, et au vu de l'importance des GBPs dans l'immunité anti-*Francisella*, notre objectif était de comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires contrôlant le recrutement des GBPs sur *F. novicida* dans les macrophages humains.

*F. novicida* a été recouverte de GBP1 et de GBP2 dans les macrophages humains mais a échappé le recrutement de GBP3 et de GBP4. Des expériences de co-infection suggèrent que les GBPs ciblent de préférence *S. flexneri* en comparaison avec *F. novicida*. Nous avons étudié les caractéristiques de GBP1 et GBP2 promouvant le recrutement à *F. novicida* et nous avons montré que l'activité GTPase unique de GBP1 et requise pour initier le ciblage de GBP1 à *F. novicida* mais est facultative pour le recrutement sur *S. flexneri*. De plus, des analyses de GBP2/5 chimériques ont permis d'identifier la région centrale de GBP2 (K340-R535) comme nécessaire et suffisante pour cibler des GBPs prénylées à *F. novicida*. Enfin, un mutant de *F. novicida*  $\Delta lpxF$  portant un LPS penta-acylé a été enrichi en

GBP3 suggérant que les modifications du LPS contribuent à l'échappement de GBP3. Somme toute, nos résultats suggèrent que les GBPs ont une affinité différente pour les espèces bactériennes différentes, et que le répertoire des GBPs recrutées sur une bactérie cytosolique est dicté par des facteurs GBP-intrinsèques et bactériens, tels que la structure du lipid A bactérien.

Peu d'espèces bactériennes sont adaptées à la vie dans le cytosol cellulaire. En tant que pathogène cytosolique, *S. flexneri* sécrète plusieurs effecteurs afin de bloquer des acteurs de l'immunité cytosolique, y compris les GBPs. Cette étude démontre une approche alternative : la stratégie furtive développée par *F. novicida*. La moindre affinité des GBPs pour *F. novicida* a permis de décortiquer les différents domaines qui permettent le recrutement des GBPs à la surface bactérienne. Cette étude illustre l'importance d'explorer différents modèles bactériens afin d'élargir notre compréhension des spécificités des interactions hôte-pathogène.