



Université Claude Bernard



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **17 mars 2023**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame GOLDLUST Kelly**

Titre de la thèse : « *Dynamique du pilus conjugatif et des machineries de conjugaison durant le transfert d'ADN bactérien* »



Résumé

Les communautés microbiennes sont capables d'échanger de l'information génétique grâce aux transferts horizontaux de gènes (THG). Ces THG participent à l'évolution et la grande diversité des génomes bactériens. Parmi les mécanismes de THG on retrouve la conjugaison bactérienne. La conjugaison est un mécanisme ubiquitaire de transfert de matériel génétique intra et inter-espèces nécessitant le contact entre une bactérie donneuse et une bactérie receveuse, laquelle devient une bactérie appelée transconjugante une fois le matériel génétique acquis. En 1946, le premier élément conjugatif que l'on nomme aujourd'hui plasmide F a été découvert (Lederberg and Tatum, 1946). Ce plasmide est devenu un paradigme d'étude de la conjugaison chez les bactéries à Gram-, et il existe à ce jour un grand nombre d'études génétiques, biochimiques et structurales qui décrivent les **mécanismes** et facteurs **moléculaires** impliqués dans son transfert horizontal. Cependant l'organisation spatio-temporelle de la conjugaison à l'échelle de la cellule reste encore peu étudiée. C'est dans ce contexte que l'équipe de recherche dans laquelle j'ai réalisé ma thèse a développé des outils permettant de visualiser la dynamique des différentes étapes de la conjugaison par microscopie à fluorescence en temps réel. Cette plateforme de visualisation de la conjugaison permet de suivre le transfert de l'ADN simple brin de la donneuse à la receveuse, sa conversion en double brin dans la receveuse, l'expression

des gènes plasmidiques nouvellement acquis et la conversion phénotypique de la bactérie receveuse en transconjugante. Mes travaux de thèse se concentrent sur la caractérisation de la dynamique du processus de conjugaison à l'échelle cellulaire, et plus particulièrement sur le rôle du pilus conjugatif. Le pilus codé par le plasmide F est une nano-machine extracellulaire tubulaire et flexible associée à un système de sécrétion de type 4 et exposée à la surface de la cellule donneuse. Le pilus conjugatif est responsable de l'établissement du contact entre cellule donneuse et receveuse, permettant ainsi la formation de la paire de conjugaison avant le transfert de l'ADN. Le pilus est également capable de se rétracter permettant le rapprochement spatial et l'établissement d'un contact direct entre la donneuse et la receveuse. Si la composition et la structure du pilus est très bien décrite, son rôle dans la conjugaison fait encore l'objet de débat. Depuis longtemps, il a été proposé que le pilus pourrait également servir de conduit pour l'ADN. Cependant, aucune démonstration directe n'existe à ce jour. L'un des objectifs principaux de ma thèse a été de tester cette hypothèse. Dans ce but, j'ai élaboré une méthode de visualisation par fluorescence du pilus conjugatif du plasmide F. Cette méthode a permis de caractériser la morphologie et la dynamique du pilus. Combinée avec des systèmes rapporteurs du transfert de l'ADN plasmidique, j'ai démontré de façon directe que le pilus pouvait servir de conduit pour l'ADN lors d'évènements de transferts entre cellules qui ne sont pas en contact direct mais distante physiquement. J'ai par ailleurs participé à plusieurs projets de recherche au sein du laboratoire ou en collaboration, lesquels décrivent la chronologie de différentes étapes de la conjugaison ou l'implication de certains facteurs de la nouvelle cellule hôte. L'ensemble de ces travaux et résultats permettent d'améliorer notre compréhension fondamentale de l'organisation intracellulaire et de la dynamique en temps réel du mécanisme de transfert de plasmide par conjugaison, ainsi que de son impact au sein des populations bactériennes.

Mots clés : *Conjugaison bactérienne, Visualisation ADN plasmidique, Pilus conjugatif, Microscopie à fluorescence.*