



Université Claude Bernard



## DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **03 juillet 2023**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame PILLON Margaux**

Titre de la thèse : « *Interactions entre effecteurs de Legionella pneumophila lors de l'infection : Subversion du cytosquelette d'actine et de la machinerie d'expression génique de l'hôte* »



### Résumé

*Legionella pneumophila* est une bactérie environnementale des milieux aquatiques pouvant infecter les humains et provoquer une pathologie, la légionellose. Afin de permettre sa réplication intracellulaire dans ses cellules hôtes, cette bactérie a acquis de nombreux « outils » : un système de sécrétion de type 4 Dot/Icm et ses 300 effecteurs sécrétés, le plus large répertoire d'effecteurs dans le règne bactérien. Une fois dans la cellule hôte, ces effecteurs forment un réseau interconnecté qui cible et détourne finement de nombreuses voies de signalisation cellulaire, permettant ainsi la réplication de *L. pneumophila*. Mon travail de thèse permet de disséquer les relations inter-effecteurs chez *L. pneumophila* et de comprendre l'impact de ces relations sur la réplication bactérienne lors de l'infection. Plus particulièrement, nous nous intéressons à la modulation par les effecteurs de type protéine kinase de *L. pneumophila* de deux voies cellulaires, le cytosquelette d'actine et la machinerie d'expression des gènes.

Dans le cadre de l'étude de la modulation du cytosquelette d'actine, nous avons montré que LegK2 et VipA, deux effecteurs liés à l'actine, interagissent fonctionnellement. En effet, la délétion du gène *vipA* permet de restaurer les défauts présentés par la souche mutante  $\Delta legK2$  c'est-à-dire, des défauts d'inhibition (i) de la dégradation endosomale, (ii) de la polymérisation d'actine à la surface de la LCV, se traduisant par un défaut généralisé de réplication intracellulaire de la souche. Ainsi, nous avons identifié le premier exemple de relation inter-effecteur ciblant le cytosquelette d'actine et impactant la virulence de *L. pneumophila*. Nous avons démontré que LegK2 et VipA ne modulent pas leur activité respective à l'instar de relation de type « métaeffecteurs ». Au contraire, leurs activités antagonistes cibleraient plusieurs substrats, le complexe Arp2/3 pour LegK2 et l'actine-G pour VipA, pour contrôler temporellement via

l'actine la maturation phagosomale et le recyclage des endosomes, et ainsi contribuer à l'infection par la bactérie.

Lors de l'étude de la modulation de l'expression génique, nous avons révélé un autre type de relation inter-effecteur entre la protéine kinase LegK4 et MavR, dont la fonction était inconnue au début de ma thèse. Nous avons montré que LegK4 se localise aux nucléoles de cellules transfectées et ainsi, appartient à la famille des nucléomodulines. De plus, MavR interagit physiquement avec LegK4 et facilite sa localisation nucléolaire, caractérisant ainsi un nouveau mécanisme de relation entre un effecteur et son métaeffecteur. LegK4 et MavR coopèrent afin de promouvoir la réplication intracellulaire de *L. pneumophila* comme le montre la souche mutée  $\Delta legK4\Delta mavR$  présentant un défaut significatif de croissance intracellulaire tandis que les souches simplement mutées se répliquent aussi efficacement que la souche sauvage. Nous avons démontré que  $\Delta legK4\Delta mavR$  échappe toujours à la dégradation endocytique et permet ainsi la biogénèse de la LCV, suggérant l'implication de LegK4 et MavR dans des étapes du cycle infectieux en aval de la biogénèse de la LCV, telles que l'acquisition de nutriments.

Dans leur ensemble, nous mettons en lumière la diversité et la complexité des relations inter-effecteurs chez *L. pneumophila* contribuant ainsi à une meilleure compréhension de l'impact de ces dites relations sur le cycle infectieux de la bactérie. Etudier ces relations inter-effecteurs pourraient être une nouvelle approche globale pour comprendre la régulation fine d'une voie de signalisation cellulaire par *L. pneumophila* lors de l'infection.