



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **31 janvier 2024**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Monsieur WILHELM Linus**

Titre de la thèse : : « Rôles des protéines UppP, CozEa et CozEb dans la morphogénèse et l'homéostasie membranaire de la bactérie *Streptococcus pneumoniae* »



Résumé

Streptococcus pneumoniae est une bactérie pathogène à Gram positif. Son enveloppe cellulaire est composée d'une seule membrane entourée d'une épaisse couche d'un réseau complexe de glycanes appelé peptidoglycane, qui donne à la cellule sa forme et sa structure. La membrane et le peptidoglycane (PG) sont décorés par des polymères anioniques de surface, les acides téichoïques. Ces acides peuvent être directement attachés au réseau de glycanes pour former des acides téichoïques de paroi (WTAs) ou liés à une ancre lipidique pour former des acides lipotéichoïques (LTAs). Ils jouent un rôle central en modulant les propriétés physico-chimiques de la surface cellulaire. Récemment, il a été démontré qu'une protéine conservée chez les bactéries à Gram positif, appelée CozEa, est essentielle à la division cellulaire de la bactérie *Streptococcus pneumoniae*. Sa fonction est encore largement énigmatique même s'il a été proposé qu'elle pourrait réguler la protéine PBP1a nécessaire à la synthèse du PG. Afin d'étudier le rôle de CozEa, nous avons construit un mutant de déplétion. Nous avons confirmé que la croissance et la morphologie étaient gravement affectées en l'absence de CozEa, indiquant son caractère essentiel pour la division cellulaire. Cependant, nos travaux ont permis de démontrer que la fonction de CozEa n'était pas dédiée à la régulation de PBP1a. A l'inverse, nos analyses ont démontré un lien génétique entre la biosynthèse de l'un des lipides majeurs de *S. pneumoniae* et *cozEa*. De manière intéressante, la synthèse de ce lipide est interconnectée avec la synthèse des LTAs. Une analyse des LTAs produit par le mutant $\Delta cozEa$ a également montré que leur synthèse était affectée. A partir de là nous avons formulé l'hypothèse que les propriétés physico-chimiques de la membrane pourraient être affectées en l'absence de CozEa. Pour démontrer cette hypothèse, nous avons utilisé un antibiotique fluorescent ciblant spécifiquement la membrane et observé que cet antibiotique s'insérait plus efficacement dans la membrane du mutant $\Delta cozEa$. Pourtant, l'analyse des glycolipides majeurs de la membrane n'a révélé aucune différence chez le mutant $\Delta cozEa$. Nous avons alors testé différentes stratégies

pour modifier le ratio entre les acides gras insaturés et saturés de la membrane. Ces approches ont alors permis d'observer que les défauts de croissance et de morphogénèse d'un mutant CozEa pouvaient être partiellement corrigés. Cette étude a donc permis de redéfinir la fonction de la protéine CozEa. Loin d'être un régulateur des PBPs et de l'assemblage du peptidoglycane, nos observations suggèrent que la fonction de CozEa est étroitement associée au maintien de l'homéostasie membranaire et à l'assemblage de certains lipides (LTAs) nécessaires à l'assemblage d'une paroi fonctionnelle.