

DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **16 octobre 2025**

Nom de famille et prénom de l'auteur. e : **Madame Chloé DUGELAY**

Titre de la thèse : Structures, fonctions et translocation d'effecteurs par le système de sécrétion de type 4 de Brucella

Résumé



Chez Brucella, bactérie intracellulaire pathogène, le système de sécrétion de type IV (T4SS) joue un rôle central dans l'établissement de l'infection, en assurant la translocation de protéines effectrices (ou effecteurs) vers les cellules hôtes. Toutefois, les mécanismes moléculaires impliqués dans la translocation des effecteurs depuis la bactérie vers le cytosol de la cellule hôte restent mal caractérisés, notamment en raison de l'absence chez Brucella de VirD4, une protéine de couplage essentielle pour le recrutement des effecteurs et leur transfert à travers le T4SS dans la plupart des autres bactéries. Dans ce contexte, nous avons étudié la protéine VirJ, localisée dans le périplasme et potentiellement impliquée dans le fonctionnement du T4SS de Brucella. Elle pourrait constituer un candidat d'intérêt dans le cadre d'un mécanisme alternatif de translocation d'effecteurs périplasmiques. Des analyses biophysiques en solution, combinant diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS) et chromatographie d'exclusion stérique couplée à la diffusion de la lumière (MALS), ont montré que VirJ est une protéine monomérique constituée de deux domaines globulaires. La structure de son domaine N-terminal (D1) a été résolue par cristallographie. Enfin, la modélisation de la protéine entière, appuyée par l'ensemble des données structurales, a révélé que les deux domaines présentent un repliement de type α/β -hydrolase, caractéristique d'une famille d'enzymes conservées. Une activité hydrolytique a été détectée in vitro, confortant l'hypothèse d'un rôle enzymatique de VirJ dans le remodelage de la membrane interne. Nous avons également évalué la contribution de VirJ à la translocation de certains effecteurs montrant que sa présence est requise pour le transfert d'un de ces effecteurs via le T4SS. Ces résultats suggèrent une implication sélective de VirJ dans la translocation d'une sous-population d'effecteurs. En parallèle, un volet complémentaire de la thèse a été consacré à la caractérisation biochimique et structurale de trois

effecteurs bactériens (BspH, BspI et BspF), dans le but de mieux comprendre leurs propriétés moléculaires et de mettre en relation leur structure avec les données fonctionnelles obtenues in vivo. En conclusion, cette étude décrit VirJ comme une protéine multifonctionnelle associée au T4SS de Brucella, constituée de deux domaines globulaires de type α/β -hydrolase et présentant une activité enzymatique. En plus de cette fonction enzymatique, nos résultats suggèrent que VirJ pourrait également contribuer à la translocation d'une sous-population d'effecteurs, possiblement périplasmiques, via un mécanisme alternatif de transfert au sein du T4SS.

Mots-clés : cristallographie aux rayons X, Brucella, VirJ, système de sécrétion de type 4,