



UNIL | Université de Lausanne

Faculté de biologie
et de médecine

Soutenance de thèse

Vincent de Bakker

Master of Science in Biology and Master of Science in Statistical Science
Université de Leiden, Pays-Bas

Soutiendra en vue de l'obtention du grade de
Doctorat ès sciences de la vie (PhD)
de l'Université de Lausanne

sa thèse intitulée :

Inference through interference: bacterial fitness landscapes by CRISPRi-seq

Directeur-trice de thèse
Prof. Jan-Willem Veening

Cette soutenance aura lieu

**Lundi 11 décembre 2023
à 16h00**

Salle 2914, Biophore, quartier UNIL-Sorge, 1015 Lausanne

L'entrée est publique

Prof. Niko GELDNER
Directeur de l'École Doctorale

27.11.23

Inférence par interférence : diversité de croissance bactérienne par CRISPRi-seq

Vincent de Bakker

Département de Microbiologie Fondamentale (DMF)

Les gènes d'un génome sont comme les recettes d'un livre de cuisine, excepté qu'ils donnent principalement des instructions sur la fabrication de protéines au lieu de repas. Les protéines permettent aux bactéries de rester en vie, de se développer et de s'adapter à des environnements changeants, par exemple en ingérant et en digérant de la nourriture particulière spécifiques. Il est donc essentiel que les bactéries lisent les bons gènes dans les bonnes circonstances pour se comporter de manière optimale dans leur environnement. Cependant, nous ne savons pas à quoi servent nombre d'entre eux, même chez les bactéries les mieux connues. Comprendre comment les gènes conduisent à tel ou tel comportement reste donc un défi majeur en biologie. Dans cette thèse, nous présentons le CRISPRi-seq comme une méthode permettant de relever ce défi.

L'approche traditionnelle pour découvrir la fonction d'un gène consiste à le casser physiquement et à observer tout changement de comportement (comme la capacité à se développer dans un environnement précis). Ce gène y est alors fonctionnellement lié. La version moderne et améliorée de cette approche consiste à casser, dans une population de bactéries, un gène différent par cellule, et à identifier les bactéries survivantes, c'est-à-dire celles chez qui le gène cassé n'est pas un gène essentiel à la croissance. Il s'agit d'une approche puissante pour cartographier tous les gènes nécessaires à la croissance ou à la gestion de stress spécifiques, tels que le manque de nourriture. Cependant, nous ne pouvons pas étudier les gènes essentiels à la croissance de base de cette manière puisqu'ils ne peuvent pas être cassés. Le CRISPRi-seq résout ce problème en laissant le gène intact mais en le rendant illisible sous certaines conditions spécifiques.

Dans le deuxième chapitre de cette thèse, nous donnons un aperçu du fonctionnement de la méthode et de ses avantages et inconvénients, et nous fournissons des protocoles détaillés pour sa mise en œuvre. Dans les chapitres trois et quatre, nous présentons des applications pour deux bactéries notoires et pathogènes pour l'homme, *S. pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*, démontrant que le CRISPRi-seq peut relier, chez divers organismes, des gènes précis à la capacité de croissance dans des environnements avec de la nourriture, des températures ou des antibiotiques spécifiques. Nous montrons ici que la méthode peut faciliter la découverte de la fonction des gènes et la compréhension de l'origine de comportements bactériens importants sur le plan médical, comme la tolérance aux antibiotiques.

En résumé, la méthode présentée ici peut contribuer à une meilleure compréhension de l'adaptation des bactéries à des environnements changeants, et ce de manière exhaustive et à haut débit.