

THESE DE DOCTORAT DE

NANTES UNIVERSITE

ECOLE DOCTORALE N° 605

Biologie-Santé

Spécialité : « (voir liste des spécialités) » (3)

Par

Théo Dalla Santa»

« Ciblage CRISPR-Cas9 pour l'étude des interactions hôte-pathogène dans le contexte de la pneumonie »

Thèse présentée et soutenue à Nantes, le 13/01/2026

Unité de recherche : CR2TI Equipe 6

Rapporteurs avant soutenance :

Jerôme Eeckhoute DR CNRS Université de Lille UMR 1011

Marie-Bérangère Troad Pu-Ph Université de Bretagne Occidentale Brest UMR 1078

Composition du Jury :

Attention, en cas d'absence d'un des membres du Jury le jour de la soutenance, la composition du jury doit être revue pour s'assurer qu'elle est conforme et devra être répercutée sur la couverture de thèse

Président : Sophie Limou PU Nantes Université CR2TI

Examinateurs : Jerôme Eeckhoute DR CNRS Université de Lille UMR 1011

 Marie-Bérangère Troad Pu-Ph Université de Bretagne Occidentale Brest UMR 1078

Dir. de thèse : Antoine Roquilly Pu-PH Nantes Université CR2TI

Invité(s)

Cédric Jacqueline IR Nantes Université CR2TI

Aurélien Serandour MCU Nantes Université CR2TI

Ciblage CRISPR-Cas9 pour l'étude des interactions hôte-pathogène dans le contexte de la pneumonie

Mots clés : Pneumonie, Interactions hôte–pathogène, Microbiote pulmonaire, Macrophages, Phagocytose silencieuse , Ciblage CRISPR

La pneumonie constitue l'une des principales causes de mortalité dans le monde. Son évolution et sa résolution dépendent étroitement des interactions entre le microbiote pulmonaire et la réponse immunitaire de l'hôte. Dans ce contexte, cette thèse a exploré deux dimensions complémentaires : d'une part, le rôle du microbiote, et en particulier de *Streptococcus mitis*, dans la régulation de pathogènes tels qu'*Escherichia coli*, et d'autre part, les mécanismes cellulaires impliqués dans la phagocytose silencieuse, définie comme une internalisation bactérienne sans expression de cytokines pro-inflammatoires, contribuant au maintien de l'homéostasie pulmonaire.

La pneumonie constitue l'une des principales causes de mortalité dans le monde. Son évolution et sa résolution dépendent étroitement des interactions entre le microbiote pulmonaire et la réponse immunitaire de l'hôte. Dans ce contexte, cette thèse a exploré deux dimensions complémentaires : d'une part, le rôle du microbiote, et en particulier de *Streptococcus mitis*, dans la régulation de pathogènes tels qu'*Escherichia coli*, et d'autre part, les mécanismes cellulaires impliqués dans la phagocytose silencieuse, définie comme une internalisation bactérienne sans expression de cytokines pro-inflammatoires, contribuant au maintien de l'homéostasie pulmonaire.

Title : CRISPR-Cas9 screening for the study of host–pathogen interactions in the context of pneumonia

Keywords : Pneumonia, Host–pathogen interactions, Lung microbiota, Macrophages, Silent phagocytosis, CRISPR screening

Abstract : Pneumonia is one of the leading causes of mortality worldwide. Its progression and resolution are tightly dependent on the interactions between the lung microbiota and the host immune response. In this context, this dissertation explored two complementary aspects: first, the role of the microbiota, particularly *Streptococcus mitis*, in regulating pathogens such as *Escherichia coli*, and second, the cellular mechanisms involved in silent phagocytosis, defined as bacterial internalization without expression of pro-inflammatory cytokines, contributing to the maintenance of pulmonary homeostasis.

In the first research axis, we investigated *S. mitis*, a commensal species frequently associated with a protective microbial signature. Co-culture experiments showed that hydrogen peroxide (H_2O_2) production is the main factor inhibiting *E. coli*.

A genome-wide CRISPRi screen revealed that inactivation of the *tat* operon and genes involved in iron–sulfur cluster biosynthesis conferred resistance to *S. mitis* filtrates. We propose a model in which H_2O_2 oxidizes the iron–sulfur clusters of periplasmic respiratory enzymes in *E. coli*, leading to Fe^{2+} release and free radical formation via the Fenton reaction. In the second axis, we characterized silent phagocytosis. Our analyses revealed heterogeneity in cellular responses, with subpopulations expressing IL-1 β , TNF, or neither cytokine. Silent macrophages internalized a reduced number of bacteria. Finally, a CRISPR knockout screen identified genes whose inactivation, particularly Lnx1 and Capn9 promotes this process. Together, this work highlights new mechanisms by which the microbiota and macrophages contribute to the regulation of lung infections and the maintenance of homeostasis.