

## Fella Hamitouche

Characterization of *Bacillus cereus* thiol proteome

### Résumé

*Bacillus cereus* est un pathogène alimentaire doté d'une grande capacité à s'adapter aux changements environnementaux, et en particulier aux changements de condition d'oxygénation. En réponse à la disponibilité d'oxygène, la bactérie ajuste son métabolisme central pour maintenir l'homéostasie redox cellulaire. Les résidus cystéines sont des éléments centraux de l'homéostasie redox, en raison des propriétés que leur confèrent les groupements thiols (SH). L'ensemble des protéines contenant des résidus cystéines dont l'état redox peut être modifié de manière réversible constitue le thiol protéome.

Afin de comprendre dans quelle mesure le thiol protéome contribue à l'homéostasie redox de *B. cereus* ATCC14579 lors de sa croissance respiratoire aérobie et de sa croissance fermentaire anaérobie, nous avons mis au point et expérimenté une approche de protéomique redox basée sur l'alkylation différentielle des cystéines et la détection des cystéines alkylées par spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS). Le suivi de l'état redox des cystéines réactives au cours de la phase exponentielle de croissance nous a permis de mettre en évidence la spécificité du thiol protéome, sa dépendance à la phase de croissance et sa dynamique en fonction des conditions d'oxygénation. Globalement, la détection des protéines portant des thiols réactifs a apporté des informations prédictives sur les processus biologiques et les voies cellulaires régulés par l'état redox cellulaire. Par ailleurs, nous avons montré que l'état redox global du thiol protéome évoluait au cours de la croissance, vers un état plus réduit en anaérobiose et moins réduit en aérobiose. Ceci pourrait être révélateur d'une forte présence d'espèces réactives d'oxygène (ROS) au début de la croissance en anaérobiose et en fin de croissance en aérobiose. L'analyse détaillée du protéome aérobie a montré un enrichissement en protéines anti-oxydantes en fin de croissance et une diminution de son contenu en cystéines, suggérant une adaptation du protéome et du thiol protéome aux conditions plus oxydantes rencontrées en fin de croissance. Ce travail de thèse est la première étude du thiol protéome de *B. cereus*. Il a permis de fournir des cartographies des thiols protéomes aérobie et anaérobie, qui serviront de références aux études visant à élucider l'adaptation cellulaire de *B. cereus* aux changements de son environnement.

### Abstract

*Bacillus cereus* is a foodborne pathogen, which is able to sense and adapt to changing environments, particularly to changes in oxygenation conditions. In response to oxygen availability, the bacterium adjusts its central metabolism to maintain cellular redox homeostasis. Cysteine residues are central elements of redox homeostasis, owing to the properties of thiol (SH) groups. The set of proteins with cysteine residues whose redox status can be reversibly modified constitutes the thiol proteome.

To understand how the thiol proteome contributes to the redox homeostasis of *B. cereus* ATCC14579 during aerobic respiratory growth and anaerobic fermentative growth, we have implemented and performed a redox proteomics approach based on the differential alkylation of cysteine residues and the detection of alkylated cysteine-containing peptides by tandem mass spectrometry (LC-MS/MS).

Monitoring the reversible redox status of cysteine residues, as exponential growth progresses, highlighted the specificity and the growth phase dependence of the thiol proteome, and its dynamics in response to oxygenation conditions. Overall, identifying proteins with reactive thiols has provided predictive information on biological processes and cellular pathways that

are regulated by the cellular redox status. Furthermore, we observed changes in the global redox status of the thiol proteome, leading to a high and a low reduced status at the end of exponential anaerobic and aerobic growth, respectively. This could be indicative of a high occurrence in reactive oxygen species (ROS) at the beginning of fermentative anaerobic growth and at the end of the aerobic respiratory growth. Comprehensive analysis of the aerobic proteome showed both an enrichment in antioxidant proteins and a decrease in cysteine content at the end of the growth, suggesting a proteome and thiol proteome adaptation to the increasing oxidative conditions encountered at the end of growth. This PhD work provided the first analysis of *B. cereus* thiol proteome. The maps of the aerobic and anaerobic thiol proteomes could serve as references for further studies aiming to elucidate the cellular adaptation of *B. cereus* to environmental changes.