

# Avis de Soutenance

Madame Solène CARON

## Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés  
*Du transport de l'ADP-heptose à l'activation de la voie ALPK1 : mécanismes de contrôle de l'inflammation*

Travaux dirigés par Monsieur Yvan JAMILLOUX

Soutenance prévue le **mardi 23 juin 2026** à 14h00

Lieu : Amphithéâtre Pasteur 21 Avenue Tony Garnier - 69365 LYON

### Composition du jury proposé

M. Yvan JAMILLOUX	Maître de conférences - praticien hospitalier	Lyon 1 Université	Directeur de thèse
M. Manuele REBSAMEN	Professeur assistant	Université de Lausanne (Suisse)	Examinateur
M. Stephen GIRARDIN	Professeur	Université de Toronto (Canada)	Rapporteur
Mme Cecile ARRIEUMERLOU	Chargée de recherche	INSERM Paris	Examinatrice
M. Nicolas LAPAQUE	Directeur de recherche	INRAE Jouy-en-Josas	Rapporteur
Mme Fabienne VENET	Professeure des universités - praticienne hospitalière	Lyon 1 Université	Examinatrice
M. Thomas HENRY	INSERM Lyon	Invité	

**Mots-clés :** ALPK1, TIFA, ADP-Heptose, SLC35C2

### Résumé :

L'immunité innée constitue la première ligne de défense contre les pathogènes et repose sur la détection de motifs moléculaires conservés par des récepteurs spécialisés. Cette reconnaissance déclenche des voies de signalisation pro-inflammatoires, notamment via l'activation de NF- $\kappa$ B, conduisant à la production de cytokines et chimiokines nécessaires à l'élimination des agents infectieux. Parmi ces mécanismes, la voie ALPK1 a récemment émergé comme une voie clé de détection cytosolique de l'ADP-heptose, un intermédiaire de la biosynthèse du lipopolysaccharide des bactéries à Gram négatif. La reconnaissance de l'ADP-heptose par la kinase ALPK1 induit la phosphorylation de la protéine adaptatrice TIFA, entraînant son oligomérisation et l'activation de la voie NF- $\kappa$ B. Cette cascade permet l'induction de gènes pro-inflammatoires et participe à la réponse immunitaire contre différentes bactéries pathogènes. Cependant, les mécanismes régulant l'activation de cette voie dans les cellules immunitaires humaines, ainsi que les étapes contrôlant

l'accès intracellulaire de son ligand, restent encore mal caractérisés. Au cours de ma thèse, j'ai montré que la réponse à l'ADP-heptose diffère selon les types cellulaires et que, dans les monocytes humains, l'activation de la voie ALPK1/TIFA nécessite un priming par l'IFN- $\gamma$ . Cette cytokine induit l'expression de TIFA, qui constitue un facteur limitant de la signalisation. De plus, grâce à un crible CRISPR/Cas9 réalisé à l'échelle du génome humain, j'ai identifié des régulateurs de la voie ALPK1/TIFA, notamment le transporteur SLC35C2. Celui-ci apparaît comme un régulateur clé de la disponibilité intracellulaire de l'ADP-heptose, révélant ainsi une étape déterminante en amont de l'activation d'ALPK1. Ce rôle de transporteur a été confirmé *in vitro*, dans des cellules primaires de moelle osseuse de souris ainsi que dans des organoïdes murins et confirmé dans un modèle plus physiologique lors d'infections de cellules par *Campylobacter jejuni*. Ainsi, mes travaux mettent en évidence une double régulation de la voie ALPK1, reposant à la fois sur l'expression de ses composants et sur le contrôle de l'accès intracellulaire de son ligand, apportant un nouveau cadre conceptuel pour la régulation de cette voie de l'immunité innée.

### Summary:

Innate immunity constitutes the first line of defense against pathogens and relies on the recognition of conserved molecular patterns by specialized receptors. This recognition triggers pro-inflammatory signaling pathways, notably through the activation of NF- $\kappa$ B, leading to the production of cytokines and chemokines required for pathogen clearance. Among these mechanisms, the ALPK1 pathway has recently emerged as a key cytosolic sensing pathway for ADP-heptose, an intermediate of lipopolysaccharide biosynthesis in Gram-negative bacteria. Recognition of ADP-heptose by the kinase ALPK1 induces phosphorylation of the adaptor protein TIFA, leading to its oligomerization and activation of the NF- $\kappa$ B pathway. This cascade promotes the induction of pro-inflammatory genes and contributes to host defense against a broad range of bacterial pathogens. However, the mechanisms regulating the activation of this pathway in human immune cells, as well as the processes controlling intracellular access to its ligand, remain poorly understood. During my PhD, I demonstrated that the response to ADP-heptose varies across cell types and that, in human monocytes, activation of the ALPK1 pathway requires priming by IFN- $\gamma$ . This cytokine induces the expression of TIFA, which acts as a limiting factor for signaling, thereby enabling NF- $\kappa$ B activation and the production of pro-inflammatory cytokines. In addition, using a genome-wide CRISPR/Cas9 screen, I identified regulators of the ALPK1/TIFA pathway, including the transporter SLC35C2. This protein acts as a key regulator of intracellular ADP-heptose availability, revealing a critical upstream step in ALPK1 activation. This transport function was further validated *in vitro*, in mouse primary cells, in murine organoids and during infection with *Campylobacter jejuni*. Altogether, my work reveals a dual regulatory mechanism governing ALPK1 pathway activation, involving both the expression of its signaling components and the control of intracellular ligand availability. These findings provide a new conceptual framework for understanding the regulation of this innate immune signaling pathway.