

# RESUME

## Thèse Mirella Nader

Le fer est un élément essentiel à la croissance et à la virulence de *Pseudomonas aeruginosa*, mais son acquisition est limitée en raison de la faible solubilité de ce métal à pH physiologique. Pour contourner cette faible biodisponibilité, *P. aeruginosa* sécrète un sidérophore majeur appelé pyoverdine (Pvd), composé d'un chromophore relié à un peptide de 8 acides aminés. Les sidérophores sont caractérisés par une très grande affinité pour le fer et leur rôle est de solubiliser et chélater ce métal dans le milieu extracellulaire. Le complexe sidérophore-ferrique est ensuite transporté dans la bactérie grâce à des transporteurs membranaires spécifiques. Le transport de la pyoverdine-ferrique à travers la membrane externe de *P. aeruginosa* est assuré par le récepteur FpvA, composé de 3 domaines: un tonneau, un domaine globulaire appelé bouchon qui obture le pore du tonneau et enfin un domaine de signalisation localisé dans le périplasme.

Une première partie de ce travail de thèse a permis de caractériser par des approches structurales et fonctionnelles, les mécanismes d'interactions de FpvA avec différentes pyoverdines qui diffèrent dans la séquence du peptide. Par mutagenèse dirigée, l'importance de certains résidus proches du site actif dans le mécanisme de liaison de la pyoverdine-ferrique avec FpvA a été étudiée. Le mécanisme de transport a été suivi avec un récepteur reconstitué à partir des domaines tonneau et bouchon n'appartenant pas à la même chaîne peptidique. Ce récepteur reconstitué présent au niveau des membranes externes de la bactérie, est capable de lier et de transporter la pyoverdine-ferrique avec la même affinité que le récepteur sauvage, mais avec une efficacité moindre.

La deuxième partie de ce travail de thèse a concerné un récepteur alternatif de la pyoverdine appelé FpvB. Les études de liaison ont montré une affinité de FpvB pour la pyoverdine-ferrique équivalente à celle du récepteur FpvA. En revanche, nos données indiquent que les mécanismes de dissociation du métal de la pyoverdine seraient probablement différents selon que le complexe sidérophore-fer est transporté par le récepteur FpvA ou FpvB. Dans le cas de la voie FpvA, une réduction du fer est impliquée. Pour la voie FpvB, un mécanisme différent serait utilisé. Grâce aux propriétés de fluorescence de la pyoverdine, les éléments impliqués dans la dissociation du complexe Pvd-Fe et dans le transport à travers la membrane interne devraient être caractérisés par une approche alliant la biologie moléculaire et la biochimie.