

DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **07 novembre 2025**

Nom de famille et prénom de l'auteur. e : **Madame Cyrielle ARRAULT**

Titre de la thèse : Etude structurale et fonctionnelle par RMN de protéines impliquées dans la résistance bactérienne à l'argent

Résumé



L'argent, valorisé depuis des siècles pour ses propriétés puissantes antimicrobiennes, est largement utilisé dans des applications médicales et industrielles, telles que les pansements pour brûlures et les systèmes de purification de l'eau. Cependant, son utilisation excessive a conduit à l'émergence d'une résistance bactérienne, compromettant son efficacité. La résistance à l'argent a été documentée pour la première fois en 1975 après l'observation de cas de septicémie chez trois patients dans un hôpital du Massachusetts, où des souches résistantes ont été isolées. Cette résistance a été attribuée à l'opéron *Sil*, identifié chez *Salmonella typhimurium* venant du plasmide pMG101, pour lequel une résistance à d'autres agents antimicrobiens tels que le mercure et les antibiotiques a été observée. L'opéron *Sil* code pour neuf protéines qui forment une pompe d'efflux de type résistance-nodulation-division (RND), un système compliqué qui expulse les substances toxiques des cellules bactériennes. Les composants clés incluent *SilA*, *SilB* et *SilC*, qui forment une pompe à efflux et facilitent le transport des ions argent empêchant leur accumulation intracellulaire. *SilR* et *SilS* forment un système de régulation à deux composants contrôlant l'expression de la plupart des protéines *Sil*, à

l'exception de SilE, qui agit comme une « éponge » à argent. SilP, une ATPase de type P, transporte les ions argent du cytoplasme vers le périplasme. SilG a un rôle probable d'oxydoréductase, et SilF est une protéine chaperonne. Cette thèse explore les rôles de plusieurs protéines de l'opéron Sil, notamment SilS, SilE, SilB, SilG et SilF, avec un accent principal sur SilB, un composant critique du système d'efflux. Pour élucider la fonction de SilB, des versions tronquées de SilB ont été produites et analysées par résonance magnétique nucléaire (RMN), dichroïsme circulaire (CD) et spectrométrie de masse. La RMN a révélé des dynamiques conformationnelles uniques dans la région N-terminale de SilB. En présence d'ions argent, SilB adopte deux conformations distinctes avec un taux d'échange remarquablement lent, indiquant un mécanisme de liaison étroitement régulé. Des calculs de structure, réalisés avec et sans ions argent, ont fourni des informations sur la transition de l'état non lié à deux états liés à l'argent, clarifiant ainsi le rôle de SilB dans la reconnaissance et le transport de l'argent. De plus, des études ont été effectuées sur les interactions protéine-protéine au sein de l'opéron Sil pour comprendre le cheminement du transport des ions argent à travers la pompe d'efflux RND. En analysant les interactions de SilB avec des composants comme SilF et SilE, ces analyses ont permis d'élucider les mécanismes moléculaires sous-jacents à la résistance à l'argent.

Mots-clés : RMN, résistance bactérienne, pompe à efflux, RND, Protéine intrinsèquement non structurée