



Université Claude Bernard



# DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **12 juillet 2023**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Madame GOBET Alexia**

Titre de la thèse : « *Caractérisation structurale et fonctionnelle du transporteur de multiples drogues, BmrA par cryoEM ; Création d'outils pour les études biophysiques et biochimiques des protéines membranaires* »



## Résumé

Depuis leur découverte, les antibiotiques ont été utilisés de façon massive et parfois non appropriée en médecine humaine mais également en agriculture. Face à l'action de ces médicaments visant à éliminer les bactéries, ces dernières ont développé différents mécanismes d'antibiorésistance s'opposant à cette action. Parmi les mécanismes développés par les bactéries pour lutter contre les antibiotiques, on retrouve la capacité à exporter le médicament hors de la cellule à travers la membrane plasmique. Cet export engendre une concentration de l'agent cytotoxique inférieure à son seuil de cytotoxicité, protégeant ainsi la cellule. Ceci est réalisé par les pompes d'efflux dont font partie les transporteurs ABC (ATP-binding cassette) qui effluent le substrat grâce à l'énergie fournie par la fixation et l'hydrolyse d'ATP. Le mécanisme mis en jeu lors de l'export de l'allocrite reste encore débattu au sein de la communauté scientifique. La protéine membranaire, BmrA, est un exportateur ABC présent chez *Bacillus subtilis*, actif sous forme homodimérique et capable de prendre en charge différents substrats. Au cours de ma thèse, j'ai cherché à améliorer la compréhension de son mécanisme, et plus particulièrement celle du passage d'un comportement michaélien à allostérique vis-à-vis de l'ATP-Mg<sup>2+</sup> en réponse à la fixation d'un substrat. Ainsi, j'ai résolu la structure de plusieurs intermédiaires conformationnels par cryomicroscopie électronique et étudié la plasticité de la protéine par analyse de la variabilité 3D. En parallèle, j'ai réalisé différents travaux méthodologiques contribuant à améliorer l'étude des protéines membranaires, de l'étape de l'expression à celle de l'étude structurale par cryo-EM.