

### **05.3**

#### **Analyse mutationnelle systématique de l'hydrolase putative PqsE : vers une meilleure compréhension moléculaire de l'acquisition de la virulence chez *Pseudomonas aeruginosa***

Benjamin Folch, Eric Déziel, Nicolas Doucet

*INRS-LAF*

*Pseudomonas aeruginosa* est un important pathogène opportuniste de l'humain qui établit une communication bactérienne en synchronisant le comportement de cellules individuelles par un phénomène moléculaire appelé «quorum sensing». Ce mécanisme subtil impliquant les produits des gènes de l'opéron PQS engendre l'enzyme PqsE nécessaire à la synthèse des phénazines extracellulaires (telle la pyococyanine) et essentielle à l'acquisition du phénotype de complète virulence de *P. aeruginosa*. Malgré plusieurs études fonctionnelles et structurales visant à déchiffrer le rôle de cette cible thérapeutique, aucune fonction moléculaire n'a été attribuée à PqsE à ce jour. Afin de mettre en évidence les positions des résidus clés impliqués dans la fonction moléculaire de cette enzyme, nous avons effectué une série de mutants alanine visant à modifier la fonction biologique de PqsE. À l'aide de comparaisons de séquences et de superpositions structurales avec des homologues, nous avons identifié des positions cruciales au site actif putatif de PqsE et dans son environnement, révélant ainsi le rôle clé du motif en hélice situé en C-terminal de l'enzyme. Nos résultats suggèrent que le site actif de l'enzyme comprend également des résidus situés plus loin dans le noyau hydrophobe de la protéine et que son accès au solvant est régi par les deux hélices C-terminales jouant un rôle de clapet. Par ailleurs, en tenant compte de ces résultats, nous avons effectué le criblage virtuel de plus de 60 000 molécules à potentiel pharmaceutique dans le but d'identifier de potentiels inhibiteurs que nous testons actuellement par titrage iso-calorimétrique afin de contrer l'acquisition de la virulence de *P. aeruginosa* et d'aider à réduire les infections nosocomiales.