

NOUVELLE

La protéine Fe-S NfuA, un nouvel acteur essentiel dans la virulence de *Pseudomonas aeruginosa*

Agathe Blanchard^{1*}, Caroline Gora^{1*}, Marie-Pierre Golinelli-Cohen²

¹M1 Biologie Santé, Université Paris-Saclay, 91405 Orsay, France.

²Université Paris-Saclay, CNRS, Institut de Chimie des Substances Naturelles, UPR2301, 91198 Gif-sur-Yvette, France.

agathe.blanchard@u-psud.fr

caroline.gora@u-psud.fr

marie-pierre.golinelli@cnsr.fr

> *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie gram négatif responsable d'environ 10 à 15 % des infections nosocomiales. Elle affecte tout particulièrement les patients atteints de mucoviscidose ou immunodéprimés, avec un taux élevé de morbidité. Présentant de nombreuses résistances aux antibiotiques, *P. aeruginosa* est aujourd'hui encore un problème majeur de santé publique et nécessite de nouvelles thérapies de manière urgente [1] (→).

(→) Voir la Synthèse de F. Barbier et M. Wolff, *m/s* n° 11, novembre 2010, page 960

P. aeruginosa possède un large génome qui code de nombreuses protéines régulatrices qui constituent des *senseurs* pour les signaux environnementaux et contrôlent l'expression des facteurs de virulence et de résistance pour lui permettre de survivre à des environnements divers [2]. Lors de l'infection de l'hôte, la bactérie subit par exemple un stress oxydatif pouvant affecter sa survie s'il n'est pas neutralisé.

Depuis quelques années, de nombreux arguments plaident en faveur d'une implication des protéines à centre Fe-S (fer-soufre) dans la virulence de diverses bactéries pathogènes [3] (→).

(→) Voir la Nouvelle de A. Carreaux et al., *m/s* n°6-7, juin-juillet 2017, page 603

Chez les bactéries, comme dans tous les organismes, les protéines Fe-S sont impliquées dans de nombreuses voies cellulaires essentielles, dont la respiration ou le maintien de l'intégrité génomique. Récemment, Romsang et al. [4] se sont intéressés à la protéine d'échafaudage NfuA nécessaire à la maturation des centres Fe-S des protéines en condition de stress oxydatif ou de carence en fer. Sa fonction chez *P. aeruginosa* est peu connue à ce jour. Cependant, sa mutation sensibilise la bactérie aux antibiotiques de type fluoroquinolones en condition d'aérobiose. Ainsi, la protéine NfuA permettrait le maintien de la croissance et de la virulence de *P. aeruginosa* dans différentes conditions de stress (stress oxydatif, anaérobiose, carence en fer).

Mécanisme de répression de *nfuA* par IscR

En condition de stress, l'expression des protéines impliquées dans la protection de la bactérie est fréquemment induite. Les auteurs ont donc étudié, dans un premier temps, le niveau d'expression du gène *nfuA* en mesurant les quantités d'ARNm par RT-qPCR dans des conditions de stress oxydatif ou de carence en fer. Ainsi, le niveau d'expression du gène est augmenté selon un profil comparable à celui des gènes régulés par la protéine Fe-S IscR, un régulateur transcriptionnel de l'expression de gènes impliqués dans la biogenèse des centres Fe-S [5]. Afin de vérifier l'importance d'IscR dans la régulation de l'expression de *nfuA*, son gène a été délété dans la bactérie. Il est alors apparu que l'expression de *nfuA* était plus élevée mais non affectée par un stress. Ainsi, IscR est un répresseur transcriptionnel de l'expression de *nfuA* mais, en condition de stress, cette répression est levée. Typiquement, IscR se lie spécifiquement à une séquence consensus localisée près

*Ces deux auteurs ont participé de façon égale au travail

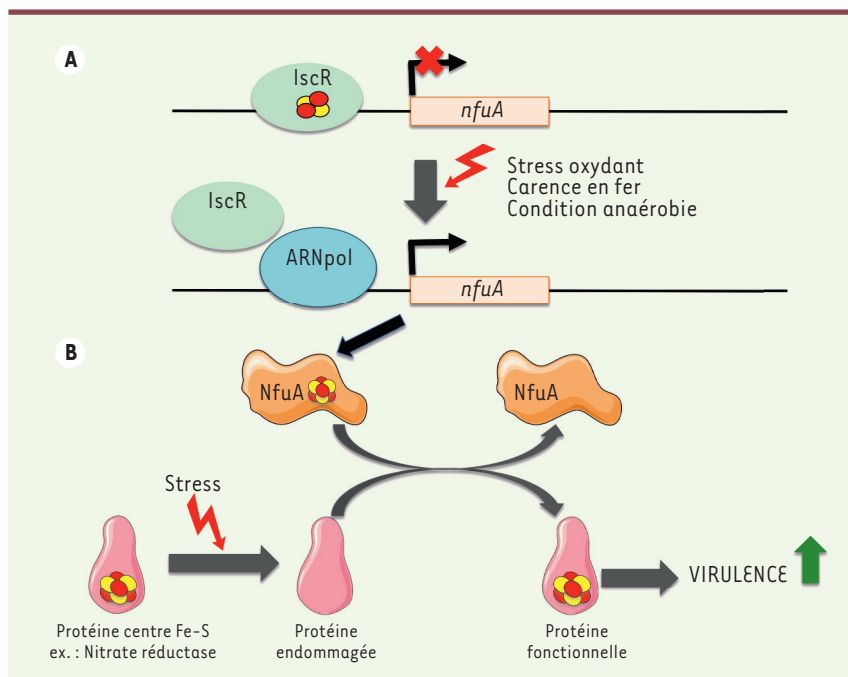


Figure 1. Régulation du gène *nfuA* et des fonctions de *NfuA* lors d'un stress. (A) En condition basale, le gène *nfuA* est réprimé par la protéine Fe-S IscR qui se fixe en aval de son promoteur en masquant le motif de liaison de l'ARN polymérase. Celle-ci ne peut alors plus se fixer sur le promoteur du gène, ce qui inhibe la transcription de *NfuA*. Sous l'effet d'un stress (oxydant, carence en fer), le centre Fe-S d'IscR (représenté par des sphères rouges et jaunes) est dégradé et IscR ne se lie plus à l'ADN ce qui lève l'inhibition du gène *nfuA*. L'ARN polymérase peut ainsi se fixer et induire la transcription du gène. **(B)** La protéine *NfuA* ainsi synthétisée assemble alors un centre Fe-S qui peut être transféré à une protéine cible comme la nitrate réductase, dont le centre Fe-S aurait été dégradé par un stress.

du promoteur de ses gènes cibles. Par des expériences d'extension d'amorce à partir d'ARNm purifiés, les auteurs ont pu localiser le promoteur de *nfuA* et l'analyse de séquences en amont de ce dernier a permis d'identifier un site potentiel de liaison d'IscR. Puis, une expérience de retard sur gel a révélé qu'IscR se lie spécifiquement et directement en amont du promoteur de *nfuA*, sur un site chevauchant partiellement le motif consensus -35 (-35 Box) sur lequel se fixe l'ARN polymérase. Même si l'importance du centre Fe-S d'IscR dans cette liaison n'est pas encore démontrée, les auteurs proposent qu'en condition de stress oxydant affectant le centre Fe-S d'IscR, la liaison de ce dernier au promoteur de *nfuA* diminuerait, ce qui favoriserait l'interaction de l'ARN polymérase avec ce même promoteur et lèverait la répression de l'expression de *nfuA* (Figure 1).

NfuA dans la réponse au stress

Les auteurs se sont ensuite intéressés aux rôles cellulaires de la protéine *NfuA*. Après avoir démontré l'implication de la protéine dans la maturation de certaines protéines Fe-S, ils se sont focalisés sur son implication dans la réponse au stress. Tout d'abord, en évaluant la viabilité de la bactérie par culture sur boîte de Pétri, ils ont montré que la déplétion du gène *nfuA* rend la bactérie plus sensible à différentes conditions qui affectent l'intégrité des centres Fe-S (carence en fer, présence de métaux toxiques comme le cuivre ou le cobalt). Dans un second temps, ils se sont intéressés aux résidus cystényls conservés dans les deux domaines fonctionnels de la protéine, à savoir les domaines ATC (impliqué dans la reconnaissance de la protéine cible) et Nfu (directement impliqué dans la coordination du centre

Fe-S de *NfuA*). Par mutagenèse dirigée de ces résidus, ils ont alors montré que les cystéines du domaine Nfu sont essentielles à la fonction de la protéine dans la protection contre le stress. Ce dernier résultat est compatible avec le modèle selon lequel *NfuA* assemble un centre Fe-S qui est ensuite transféré à des protéines cibles pour réparer leurs centres Fe-S endommagés par un stress afin de maintenir la viabilité cellulaire (Figure 1).

Implication de *NfuA* dans la virulence de la bactérie en anaérobiose

Les auteurs se sont finalement intéressés à l'implication de *NfuA* dans la croissance anaérobiose et la virulence de *P. aeruginosa*. Des tests de croissance ont permis de montrer que la déplétion en *NfuA* ou de l'expression d'une forme tronquée de son domaine essentiel Nfu, ou encore la surexpression d'IscR qui réprime *nfuA*, ralentit la croissance de la bactérie uniquement en condition d'anaérobiose. Cet effet est encore plus drastique lorsque le milieu de culture est additionné de nitrate, condition de culture qui requiert une enzyme de dénitrification fonctionnelle, la nitrate réductase. Or, cette dernière possède un centre Fe-S. Les auteurs ont alors constaté que l'activité de la nitrate réductase est réduite dans une souche déplétée pour le gène codant *NfuA* et que l'addition de nitrate induit l'expression de *nfuA* dans une souche sauvage. La protéine *NfuA*, dont l'expression est régulée par le nitrate, est donc essentielle pour la croissance anaérobiose de *P. aeruginosa* et pour l'activité de la nitrate réductase. De plus, la déplétion de *nfuA* de *P. aeruginosa* conduit à une baisse très forte de sa virulence dans un organisme hôte modèle (*Caenorhabditis elegans*).

NfuA, nouvelle cible thérapeutique pour lutter contre *P. aeruginosa* ?

NfuA est produite lors d'un stress oxydatif, une carence en fer ou en condition anaérobiose à la suite de la levée

de l'inhibition induite par IscR. Elle est capable d'assembler un centre Fe-S, pour remplacer les centres Fe-S endommagés, de le transférer à des protéines cibles essentielles comme la nitrate réductase (Figure 1). NfuA joue ainsi un rôle primordial dans la résistance de *P. aeruginosa* au stress oxydatif et dans sa croissance en anaérobiose, résistance cruciale pour sa survie et sa virulence lors de l'infection. Ainsi, comme cela a été observé pour d'autres bactéries pathogènes telles que *Staphylococcus aureus* [6], *Mycobacterium tuberculosis* [7] (→) et *Salmonella enterica* [3], les protéines Fe-S comme NfuA apparaissent

(→) Voir la Nouvelle de J. Guitton et al., m/s n° 6-7, juin-juillet 2018, page 612

comme de nouvelles cibles thérapeutiques afin de lutter contre des bactéries pathogènes pour l'homme. Une des options thérapeutiques serait de cibler les centres Fe-S de ces protéines par l'utilisation de molécules générant du stress oxydant. ♦

The Fe-S protein NfuA, a new key player in the virulence of *Pseudomonas aeruginosa*

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Barbier F, Wolff M. *Pseudomonas aeruginosa* prise en flagrant délit de casse ! *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 960-8.
2. Faure E, Kwong K, Nguyen D. *Pseudomonas aeruginosa* in chronic lung infections: how to adapt within the host? *Front Immunol* 2018 ; 9 : 2416.
3. Carreaux A, de Champs de Saint-Leger S, Kouidri Y, et al. Contrôle de la virulence de *Salmonella enterica* par la machinerie de biogenèse des centres Fe-S. *Med Sci (Paris)* 2017 ; 33 : 603-6.
4. Romsang A, Duang-Nkern J, Saninjuk K, et al. *Pseudomonas aeruginosa* nfuA: gene regulation and its physiological roles in sustaining growth under stress and anaerobic conditions and maintaining bacterial virulence. *PLoS One* 2018 ; 13 : e0202151.
5. Santos JA, Pereira PJ, Macedo-Ribeiro S. What a difference a cluster makes: the multifaceted roles of IscR in gene regulation and DNA recognition. *Biochim Biophys Acta* 2015 ; 1854 : 1101-12.
6. Choby JE, Mike LA, Mashruwala AA, et al. A small-molecule inhibitor of iron-sulfur cluster assembly uncovers a link between virulence regulation and metabolism in *Staphylococcus aureus*. *Cell Chem Biol.* 2016 ; 23 : 1351-1361.
7. Guitton J, Bekara M, Golinelli-Cohen MP. Les protéines Fe-S Wbl, de nouvelles cibles thérapeutiques pour lutter contre la tuberculose. *Med Sci (Paris)* 2018 ; 34 : 612-4.