

Résumé :

La ferroportine 1 (FPN1) exerce une fonction unique dans le métabolisme du fer. Exprimée à la surface des macrophages, des entérocytes et des hépatocytes, elle est la seule protéine capable d'exporter le fer dans le compartiment sanguin. L'objectif de cette thèse était d'établir des relations structure/fonction originales et d'apporter des connaissances nouvelles sur le mécanisme d'export du fer. A partir de la construction de modèles tridimensionnels (3D) de la ferroportine 1 humaine, par homologie avec les structures expérimentales d'un homologue bactérien (BbFPN ; membre de la famille des transporteurs secondaires MFS - « Major Facilitator Superfamily »), et du développement de nouvelles analyses *in vitro*, nous avons étudiés 44 variants. Cela nous a permis d'identifier des résidus qui interviendraient dans la fixation du calcium en conformation ouverte vers le milieu extérieur (« outward-facing »). Il s'agirait de la première étape du mécanisme d'export du fer, permettant une transition vers une conformation ouverte vers le cytoplasme (« inward-facing ») et la prise en charge du fer intracellulaire. Nous avons également identifié plusieurs réseaux d'interactions intra- et interlobes. Ces derniers reposent sur la formation de ponts salins et de liaisons hydrogènes entre différents résidus (« gating residues ») en conformation « outward-facing ». Nous avons en particulier révélé l'importance de l'arginine 178 qui établit un pont salin avec l'acide aspartique 473, et dont le changement en glutamine (p.Arg178Gln) correspond à l'une des mutations les plus fréquemment associées à l'hémochromatose de type 4. Ce travail de thèse se situe à l'interface de la recherche fondamentale et de la recherche clinique. Il illustre l'apport de la génétique dans la compréhension de mécanismes physiopathologiques. A l'inverse, la combinaison d'études structurales et fonctionnelles peut s'avérer indispensable pour démontrer la causalité de variants génétiques très rares.

Mots clés : Régulation systémique du métabolisme du fer, ferroportine 1, modélisation 3D, protéines MFS

Abstract :

Ferroportin 1 (FPN1), which is the sole iron export-protein reported in mammals, plays a critical function in iron metabolism. It is expressed at the surface of macrophages, enterocytes and hepatocytes. This thesis aimed at establishing new structure-function relationships and shedding new light on the mechanism of iron export. Starting from the construction of models of the three-dimensional (3D) structure of ferroportin 1 by homology to the crystal structures of a bacterial homolog (BbFPN, a member of the Major Facilitator Superfamily - MFS), we identified 44 residues potentially critical for FPN1 activity. New *in vitro* approaches allowed us to demonstrate that some of the considered residues are involved in the transition to the inward-facing state, a first critical step in the way to export iron. These amino acids might interact with calcium in the outward-facing conformation. We also identified amino acids that are part of an interaction network that stabilizes human FPN1 in the outward facing state. We specifically investigated the interaction between arginine 178 and aspartic acid 473. This led us to demonstrate that the p.Arg178Gln FPN1 mutant, which is recurrent in patients harboring a hemochromatosis type 4 phenotype, causes a significant reduction of iron egress in HEK293T cells. This is likely a direct consequence of salt bridge disruption between Arg178 and Asp473. The results I produced during my PhD occupy an intermediate position between basic and clinical science. They illustrate contribution of human genetics to understanding of disease pathophysiology. They also evidence that an integrated strategy combining structural and functional annotations can assist in correctly interpreting rare genetic variants.

Keywords : Iron metabolism regulation, Ferroportin 1, 3D model, MFS proteins, genetics variants