

Résumé : Les organophosphorés (OPs) sont des neurotoxiques utilisés massivement comme insecticides, responsables de pollutions durables des sols et des eaux. Leur décontamination étant problématique, nous nous sommes intéressés à une enzyme hyperthermostable nommée *SsoPox*, isolée de *Sulfolobus solfataricus* et capable de dégrader ces OPs. En résolvant sa structure tridimensionnelle, nous avons pu comprendre les mécanismes expliquant sa stabilité thermique, proposer un mécanisme catalytique, et fournir les outils nécessaires à l'ingénierie de cette protéine pour développer un bio-épuration d'OPs. Par ailleurs, ces travaux ont démontré que *SsoPox*, isolée pour son activité phosphotriesterase, est en réalité une lactonase naturelle, située à un véritable « carrefour » évolutif. Les lactonases comme *SsoPox* sont considérées comme une alternative prometteuse aux antibiotiques dans la lutte contre de nombreux pathogènes humains, puisque perturbant la communication entre certains pathogènes. Par ailleurs, lors d'études structurales sur une autre enzyme dégradant les OPs : la paraoxonase humaine, une autre protéine a été découverte : la Human Phosphate Binding Protein (HPBP). HPBP appartient à une famille de protéines appelée protéines DING, en raison de leur extrémité N-terminale très conservée. De façon surprenante, ces protéines sont absentes des banques de données génétiques eucaryotes. Nous avons développé une méthode qui a permis d'obtenir la séquence complète de cette protéine de 38kDa. Les difficultés à exprimer cette protéine nous ont conduits vers une protéine modèle soluble : PfluDING issue de *Pseudomonas fluorescens*. Nous avons résolu sa structure, et de façon extraordinaire, les cristaux de cette protéine diffractent à ultra haute résolution (0.88Å), ce qui nous a permis d'explorer les mécanismes moléculaires de la fixation du phosphate dans cette famille de protéines. Par ailleurs, nos derniers résultats montrent que HPBP inhibe de façon spectaculaire la réplication du VIH-1 sur des lymphocytes T humains modèles, ce qui ouvre de nouvelles pistes pour développer des thérapies originales. Ainsi, les travaux consignés dans ce manuscrit, illustrent, s'il en était encore besoin, à quel point la science est non linéaire et montrent que la sérendipité a une place centrale dans les découvertes scientifiques.

Summary: Organophosphorous compounds (OPs) are toxic nerve agents massively used as insecticides, responsible for massive, durable, soil and water pollutions. OPs decontamination being problematic, we studied a hyperthermophilic enzyme, *SsoPox* from *Sulfolobus solfataricus*, that is capable of detoxifying OPs. Solving its three-dimensional structure, we were able to understand the determinants explaining its intrinsic thermal stability, to propose new catalytic mechanisms, and to provide the necessary tools and information for engineering *SsoPox* in order to develop an efficient OPs bio-decontaminant. We also demonstrated that *SsoPox*, isolated by virtue of its phosphotriesterase activity, is a natural lactonase, located at an interesting evolution "crossroad". In addition, lactonases like *SsoPox* are considered as a promising alternative to antibiotics against certain human pathogens. Furthermore, while performing structural studies on another OPs degrading enzyme, the human paraoxonase, another protein was discovered, named Human Phosphate Binding Protein (HPBP). HPBP belongs to an intriguing protein family, named DING proteins according to their N-terminal conserved sequence. These proteins are surprisingly missing from eukaryotic sequenced genomes. We thus developed a method to obtain experimentally the complete sequence of HPBP, a 38kDa protein. The recombinant expression of HPBP being problematic, we studied a model protein: PfluDING from *Pseudomonas fluorescens*. We solved the structure of PfluDING at sub-Ångstrom resolution (0.88Å), that allowed us to determine the molecular mechanism of phosphate binding in high affinity proteins. Moreover, our last results demonstrate that HPBP strongly inhibits HIV-1 replication in infected human model T-lymphocytes. This result opens new insights for developing new treatments. Thus, all these studies illustrate that Science is not linear, and show that the serendipity has still great influence in scientific discovery.