

AVIS DE SOUTENANCE DE THÈSE

Madame Ikram BAKOUR

Candidate au Doctorat de Chimie analytique,
de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour

Soutiendra publiquement sa thèse intitulée :
Spéciation du mercure dans les cellules bactériennes en combinant des techniques analytiques.

Dirigée par Madame MATHILDE MONPERRUS et Madame MARIE-PIERRE ISAURE

le 30 juin 2023 à 9h00

Lieu : Campus Montaury Anglet Allée du Parc Montaury, 64600 Anglet

Salle : Amphithéâtre Elsa Serfass

Composition du jury :

Mme Mathilde MONPERRUS, Maître de conférences	Université de Pau et des Pays de l'Adour	Directrice de thèse
Mme Marie-Pierre ISAURE, Maître de conférences	Université de Pau et des Pays de l'Adour	Co-directrice de thèse
M. Erik BJÖRN, Professeur	Université d'Umeå	Rapporteur
Mme Claudia COSIO, Professeur des universités	Université de Reims Champagne-Ardenne	Rapporteuse
Mme Marisol GONI, Maître de conférences	Université de Pau et des Pays de l'Adour	Examinatrice
Mme Rosa del Carmen RODRÍGUEZ MARTÍN-DOIMEADIOS, Professeur	Universidad de Castilla-La Mancha	Examinatrice

Résumé :

La méthylation du mercure inorganique (Hg(II)) par divers microorganismes possédant le groupe de gènes HgcAB est une étape clé dans la production et la bioaccumulation du méthylmercure neurotoxique (MeHg). Bien que nous sachions aujourd'hui que la méthylation du Hg(II) est effectuée par des protéines HgcAB situées au niveau cytoplasmique, notre compréhension des voies et des facteurs qui contrôlent l'absorption du Hg(II) par ces organismes n'est pas claire. La méthylation microbienne se produit principalement dans des environnements anoxiques, où la spéciation du Hg devrait être régulée par des ligands contenant des thiols ou les sulfures. Cependant, notre compréhension du mécanisme par lequel ces ligands affectent la spéciation et la biodisponibilité du Hg reste limitée. Dans ce contexte, cette étude fait appel à différentes approches de chimie analytique et d'imagerie microscopique, pour étudier la spéciation et les transformations biomoléculaires du Hg au niveau cellulaire chez la bactérie sulfato-réductrice modèle *Pseudodesulfovibrio hydrargyri* BerOc1 qui méthyle le mercure. Un accent particulier a été mis sur l'étude des interactions des espèces de Hg avec les ligands soufrés tels que les thiols et les sulfures. À cette fin, le développement de méthodes analytiques hautement sélectives et sensibles était essentiel pour détecter les diverses molécules contenant du soufre et les complexes de Hg à des concentrations pertinentes pour les systèmes de culture avec des bactéries méthylophiles. Deux techniques basées sur la spectroscopie de fluorescence ont été développées pour quantifier les sulfures et les concentrations totales de thiols. Des approches de spéciation chimiques plus avancées basées sur la LC-MS/MS ont été ensuite développées pour la caractérisation moléculaire de composés thiols libres et de complexes MeHg-thiol. Par la suite, une étude des transformations du Hg utilisant des espèces de mercure enrichies isotopiquement a été réalisée pour étudier le rôle de la spéciation moléculaire du mercure dans la méthylation et déméthylation chez BerOc1. Les expériences ont été réalisées avec et sans l'ajout de ligands soufrés (cystéine et sulfures). Le taux de méthylation (K_{meth}) le plus élevé a été obtenu dans des conditions sans ajout de ligands, tandis que l'ajout de cystéine ou sulfures a entraîné une diminution de K_{meth} . Dans les conditions sans ajout de ligands soufrés, des modèles de spéciation affinés ont été générés en prenant en compte les thiols produits par BerOc1. Ces modèles ont mis en évidence que le Hg(II) formait des complexes avec une liaison mixte impliquant des thiols biosynthétisés, des ions OH⁻ et des ions Cl⁻. Nos résultats suggèrent que ces complexes augmentent le taux de formation de MeHg par rapport aux espèces Hg(Cys)₂ ou HgS(s) plus stables. En revanche, l'ajout de cystéine ou de sulfures modifiait la spéciation chimique du MeHg, sans impact sur les taux de déméthylation. Enfin, nous avons utilisé une combinaison de techniques d'imagerie à l'échelle cellulaire afin de localiser le mercure et de préciser sa relation avec le soufre sachant que des particules nanométriques de HgS avaient été observées au niveau extracellulaire auparavant. Cette étude visait en particulier à préciser si le soufre provenait de composés soufrés initialement présents dans la cellule ou d'une dégradation de la source de soufre du milieu (sulfate ou cystéine). Pour cela, la bactérie a été pré-cultivée avec ³⁴S ou ³²S, le rapport ³²S/³⁴S a été mesuré sur les images isotopiques obtenues par NanoSIMS. Les images NanoSIMS ont été ensuite corrélées aux images obtenues TEM couplée à l'analyse X-EDS. Finalement, l'ensemble de ces travaux a contribué à l'étude de la spéciation et des transformations de Hg, permettant de progresser dans la compréhension de la méthylation du Hg chez les microorganismes, cruciale pour la mesure des risques liés au mercure dans l'environnement.