



Université Claude Bernard



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **31 Mars 2017**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Antoine ZILLER**

Titre de la thèse : « Origine(s) et fonction(s) de gènes de résistance aux métaux issus de métatranscriptomes eucaryotes de sols. »



RÉSUMÉ DE THÈSE :

Le sol est essentiel à toute société humaine notamment pour la production d'aliments. Son fonctionnement repose sur des réseaux d'interactions entre les éléments qui le composent et toute perturbation modifie ces réseaux. Les microorganismes eucaryotes représentent une composante importante de l'écosystème édaphique car ils sont impliqués dans des processus essentiels comme la régulation de populations de procaryotes. Mais paradoxalement, ils restent peu étudiés comparés aux bactéries notamment lorsqu'on s'intéresse aux cycles biogéochimiques autres que celui du carbone comme par exemple ceux des métaux. Suite à une pollution par des métaux, certains de ces microorganismes eucaryotes développent des mécanismes « de résistance » cellulaires. Dans ce contexte, le laboratoire d'accueil a isolé, directement à partir d'extraits d'ARN de sol, des gènes eucaryotes impliqués dans la résistance cellulaire au Cd. Ces nouveaux gènes forment une famille codant des protéines riches en cystéines dont les positions sont conservées au sein de cette famille.

Mon projet de thèse a eu pour but de caractériser l'origine taxonomique et la fonction de cette famille de gènes. Dans un premier temps, la purification de cinq de ces protéines produites dans *Escherichia coli* et leurs caractérisations biochimiques par des méthodes spectrométriques ont permis de montrer que cette famille génique constitue une nouvelle famille de métallothionéines capables de chélater *in vitro* le Zn, le Cu et le Cd. Dans un second temps, une méthode de quantification par PCR quantitative de l'expression de ces gènes, extraits à partir de sol provenant de microcosmes, a été mise au point. Dans un troisième temps, nous avons tenté d'obtenir les régions génomiques bordant ces gènes environnementaux afin d'affilier les organismes qui les portent à un groupe taxonomique et d'analyser les régions promotrices de ces gènes par capture ciblée de gènes.



Soil is essential to human societies, especially for food production. Its functioning relies on interaction networks sensitive to environmental alterations. Eukaryotic microorganisms are an important component of the soil ecosystem where they are involved in essential processes such as the regulation of prokaryotic populations. However, they remain poorly studied

compared to bacteria, especially concerning their roles in biogeochemical cycles other than the carbon one such as metal cycles. In response to soil metal contamination, some of these eukaryotic microorganisms develop cellular "resistance" mechanisms. In this context, the host laboratory has previously isolated, directly from soils, eukaryotic genes able to confer Cd resistance. These genes form a family coding for cysteine-rich proteins whose cysteine positions are conserved within this sequences.

My thesis project aimed at characterizing the function and taxonomic origin of this gene family. First, the purification of five of these proteins produced in *Escherichia coli* and their biochemical characterizations by spectrometric methods demonstrated that this gene family constitutes a new family of metallothioneins capable of chelating *in vitro* Zn, Cu and Cd. Some of these proteins are also able to confer Zn resistance when expressed in a sensitive yeast strain. In a second step, quantitative PCR methods for measuring expression levels of these genes in soil microcosms were developed. This will allow to evaluate the level of expression of these genes as a function of an increasing supply of exogenous metal. In a third step, we tried to obtain the genomic regions flanking these environmental genes in order to be able to associate the organisms from which they originate to a taxonomic group and to analyze the promoter regions of these genes.