

THESE

Présentée pour obtenir le grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE JOSEPH FOURIER

Par

Laure AVOSCAN

Jeudi 7 juin 2007 à 14h00

Amphithéâtre Bloch, Bât.774 Orme des Merisiers, Saclay

Etude de la résistance de *Cupriavidus metallidurans* CH34 aux oxyanions sélénite et séléniate : accumulation, localisation et transformation du sélénium.

Résumé

Le sélénium est un élément trace essentiel pour les organismes vivants mais à forte concentration, il est très toxique. Les oxyanions sélénite et séléniate sont les formes les plus toxiques et prédominantes dans l'environnement. Certains micro-organismes jouent un rôle prépondérant en contribuant au cycle naturel du sélénium. Notre modèle d'étude *Cupriavidus* (anciennement *Ralstonia*) *metallidurans* CH34, bactérie tellurique issue de biotopes contaminés en métaux, est connu pour résister au sélénite (forme soluble du sélénium, très toxique et bio-assimilable) en le réduisant en sélénium élémentaire (forme précipitée insoluble et peu toxique). Afin de mieux comprendre les mécanismes de réduction du sélénium par les bactéries, trois méthodes de spéciation ont été combinées (SAX (XANES et EXAFS), HPLC-ICP-MS et SDS-PAGE-PIXE) et normalisées par la quantification du sélénium accumulé dans les bactéries. Les analyses de spéciation ont mis en évidence l'existence de deux voies de réduction du sélénium chez *C. metallidurans* CH34 : une voie d'assimilation transforme le sélénite et le séléniate en sélénium organique, identifié comme de la sélénométhionine et conduit à son incorporation dans des protéines bactériennes. L'espèce organique sélénométhionine semble être incorporée dans les protéines de façon non spécifique (présence de protéines séléniées). Une voie de détoxification précipite le sélénite en nanoparticules de sélénium élémentaire. Cette voie de détoxification ne se met pas en place après une exposition au séléniate malgré sa présence comme espèce minoritaire par rapport à l'exposition sélénite. Du sélénodiglutathion est détecté dans des bactéries stressées par une exposition au séléniate en milieu limité en sulfate. Les bactéries exposées à du sélénite accumulent 25 fois plus de sélénium que lorsqu'elles sont exposées à du séléniate. L'étude de mutants résistants au sélénite, n'exprimant pas la protéine membranaire DedA, a montré que l'accumulation du sélénium après exposition au sélénite est diminuée comparé à la souche sauvage signifiant un probable lien entre la prise en charge du sélénite et la protéine DedA. Enfin, le séléniate semble emprunter la sulfate perméase de *C. metallidurans* CH34.