



## OFFRE D'ALLOCATION DE THESE / PhD GRANT

ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES EXACTES ET LEURS  
APPLICATIONS - ED 211 / NATURAL SCIENCES DOCTORAL SCHOOL  
Avenue de l'université BP 1155 64 013 PAU Cedex – France

### SUJET DE THESE / PhD SUBJECT

**TITRE / TITLE: Méthylation du mercure par les microorganismes/ Mercury methylation by microorganisms (Thèse en Sciences environnementales/ PhD thesis in Environmental Science)**

#### **RESUME :**

Le mercure est un polluant global sur Terre, particulièrement préoccupant du fait de sa conversion en méthylmercure (MeHg), hautement toxique et qui est ensuite bioamplifié et bioaccumulé le long de la chaîne trophique. Cette transformation est principalement opérée par des microorganismes, en particulier des bactéries sulfato-réductrices dans les sédiments aquatiques, mais les mécanismes cellulaires et environnementaux à l'origine de cette méthylation ne sont pas bien compris. Cette thèse vise à progresser dans cette voie en se focalisant sur la caractérisation du mercure à l'échelle cellulaire, chez la bactérie modèle *Pseudodesulfovibrio hydrargyri* et plusieurs mutants. Le/la candidat(e) mettra en œuvre principalement des techniques d'imagerie (microscopie électronique à transmission, nano fluorescence X sur rayonnement synchrotron) et des techniques de spectroscopie d'absorption des rayons X (XAS).

#### **ABSTRACT:**

*Mercury (Hg) is a global pollutant on Earth, and is able to convert into highly toxic methylmercury (MeHg), which is bioaccumulated and bioamplified in the food web. Microorganisms, and particularly sulfate reducing bacteria (SRBs), play a central role in MeHg conversion, but the cellular and environmental mechanisms favoring MeHg production are not still well understood. The aim of this PhD thesis is to progress in this understanding by focusing on the mercury characterisation at the cell level of the model bacterium *Pseudodesulfovibrio hydrargyri* and its mutants. The PhD student will combine imaging techniques (transmission electron microscopy, synchrotron nano X-ray fluorescence) and X-ray absorption spectroscopy (XAS).*

Mots clés: Hg, bactéries, Spéciation des métaux, imagerie élémentaire, XAS

Keywords: Hg, bacteria, Metal speciation, chemical imaging, XAS

### CONDITIONS D'EXERCICE / WORKING CONDITIONS

Laboratoire : IPREM UMR 5254, Pau

Site web : <https://iprem.univ-pau.fr>

Directeur de thèse (PhD Director): Marie-Pierre ISAURE

Co-Directeur de thèse (PhD co-Director): Marisol Goñi-Urriza

En collaboration avec (In Collaboration with – if any): Mathilde Monperrus

Lieu (Place) : IPREM, Pau

Date début (start): Octobre 2022

Durée (duration): 3 ans (years)

Employeur (employer): Université de Pau et des Pays de l'Adour (UPPA)

Salaire mensuel brut (monthly salary before taxes): **2135 €** (1715 € after taxes (but still have to deduct taxes on the income))

La personne recrutée travaillera au sein du laboratoire IPREM qui dispose de deux sites, un à Pau et l'autre à Anglet. Le travail sera basé principalement à Pau. Le travail de thèse implique des déplacements (travail en collaboration avec le BIC à Bordeaux, expériences synchrotron).

La personne recrutée travaillera avec des produits chimiques toxiques. Les bonnes pratiques du laboratoire devront être assurées pour éviter tout risque pour l'environnement et la santé

*The PhD student will work at IPREM institute that is settled in two sites Pau and Anglet. The work will be mainly carried out in Pau site. The PhD work requires travels (collaboration with BIC in Bordeaux, synchrotron experiments).*

*The PhD will work with toxic chemicals. Good laboratory practices must be achieved to limit environmental and health hazards.*

## SAVOIR-FAIRE DU LABORATOIRE / HOST LABORATORY PROFILE

L'IPREM est une unité mixte de recherche (UMR 5254) CNRS et Université de Pau et des Pays de l'Adour. Les activités qui y sont développées concernent la recherche fondamentale en physico-chimie, chimie analytique et microbiologie en lien avec l'environnement et les matériaux. L'IPREM regroupe 3 pôles dont le Pôle CME (Chimie et Microbiologie de l'Environnement) qui s'intéresse aux contaminants et éléments traces dans l'environnement et à leurs interactions avec les microorganismes. Pour étudier les formes physico-chimiques de ces éléments, leurs transformations et leurs interactions avec les organismes vivants, le laboratoire met en oeuvre différentes techniques de chimie analytique basées sur la spectrométrie de masse, des techniques d'imagerie et de techniques de spéciation basées sur le rayonnement synchrotron.

Mots clés Laboratoire : Environnement, Microbiologie, Spéciation, Chimie analytique, Spectrométrie de masse, Imagerie.

*IPREM institute is a joint research unit (UMR 5254) CNRS and Université de Pau et des Pays de l'Adour. Research activities focus on the development of fundamental knowledge in physical chemistry, analytical chemistry and microbiology, in relation to environment and materials. IPREM is composed of three scientific clusters and the CME cluster (Environmental Chemistry and Microbiology) focuses on contaminants and trace elements in the environment and their interactions with microorganisms. To study chemical species, their transformations and their interactions with living organisms, our laboratory uses various analytical chemistry techniques based on mass spectrometry, as well as imaging and speciation techniques based on synchrotron radiation.*

*Laboratory Keywords: Environment, Microbiology, Speciation, Analytical chemistry, Mass spectrometry, Imaging.*

## MISSION - ACTIVITES PRINCIPALES / MISSION – PRINCIPAL ACTIVITIES

### I. Le contexte scientifique/ Scientific Context

Le mercure (Hg) est un polluant global sur Terre, qui peut être converti en méthylmercure (MeHg), hautement toxique, qui est ensuite bioamplifié et bioaccumulé le long de la chaîne trophique. Les microorganismes, en particulier les bactéries sulfato-réductrices (BSR) jouent un rôle important dans cette transformation, mais les mécanismes cellulaires et environnementaux à l'origine de la production de méthylmercure ne sont pas bien compris. Bien que les gènes *hgcA* et *hgcB* soient nécessaires pour la méthylation de Hg (Parks et al. 2013), les étapes de méthylation de Hg restent peu décrites et nous nous focalisons sur la caractérisation de Hg à l'échelle cellulaire pour progresser dans la compréhension de ces processus, depuis l'acquisition de Hg jusqu'à l'export de MeHg. Notre équipe étudie la souche modèle *Pseudodesulfovibrio hydrargyri* BerOc1. Nous développons une approche interdisciplinaire combinant la génétique, la chimie analytique basée sur la spectrométrie de masse, les techniques d'imagerie élémentaire et la spectroscopie d'absorption des rayons X pour étudier les différentes étapes menant à la méthylation de Hg.

Très récemment, nous avons identifié de nouveaux gènes chez *P. hydrargyri* ayant un impact dans la méthylation/déméthylation de Hg (Thèse S Barrouilhet) et notre projet (projet ANR Micromer) vise en particulier à mieux cerner le rôle de ces gènes.

*Mercury (Hg) is a global pollutant on Earth, and is able to convert into highly toxic methylmercury (MeHg), which is bioaccumulated and bioamplified in the aquatic food web. Microorganisms, and particularly sulfate reducing bacteria (SRBs), play a central role in MeHg conversion, but the cellular and environmental mechanisms favoring MeHg production are not still clearly understood. Although *hgcA* and *hgcB* genes have been identified as necessary for Hg methylation in some bacteria (Parks et al. 2013), the methylation process cannot be fully described, and we focus on the characterization of Hg at the bacterial cell level to progress in the understanding of Hg methylation, from its uptake to the export of MeHg. We have developed our own Hg methylating sulfate-reducing bacteria model namely, *Pseudodesulfovibrio hydrargyri* strain BerOc1. We apply*

*an interdisciplinary approach combining genetics, analytical chemistry based on mass spectrometry, and chemical imaging and X-ray absorption spectroscopy to clarify the cascade of events leading to Hg methylation. Very recently, we identified new genes as players in the trafficking of Hg at the cell level of P. hydrargyri (PhD thesis S. Barrouilhet), and some of them have important impact on Hg methylation/demethylation. The aim of our project (ANR project Micromer) is to better understand the involvement of these genes.*

## **II. Les objectifs / Objectives**

L'objectif principal de cette thèse est de clarifier les mécanismes de méthylation/déméthylation du mercure chez la bactérie sulfato-réductrice *P. hydrargyri* BerOcl. Pour cela, nous nous focaliserons sur le rôle des gènes que l'on suspecte être impliqués dans ces processus en comparant la souche sauvage à des mutants délétés ainsi qu'à d'autres souches capables de démétyler le MeHg mais incapables de méthyler le mercure inorganique. Nos objectifs spécifiques sont de préciser :

- 1- L'acquisition de Hg : la méthylation est-elle gouvernée par les premières étapes (reconnaissance et acquisition de Hg) ? Quelles sont les espèces extracellulaires de Hg et comment affectent-elles l'acquisition du métal ?
- 2- Export de Hg : Hg et MeHg sont-ils exportés et cela affecte-t-il les processus de méthylation/déméthylation ?
- 3- Rôle des métabolites : comment les métabolites (thiols, sulfures etc...) produits par les bactéries affectent-ils les espèces mercurielles et leur prise en charge ?

Pour cela, le candidat mettra en œuvre une approche basée sur les techniques d'imagerie élémentaire (microscopie électronique à transmission, nano-fluorescence X sur rayonnement synchrotron...) et de spectroscopie d'absorption des rayons X (Xanes, Exafs) pour localiser le mercure à l'échelle cellulaire et déterminer sa spéciation (Isaure et al. 2020). L'étudiant devra également assurer la mise en place de cultures bactériennes et la quantification du mercure et methylmercure (GC-ICP MS).

*The global objective of this PhD thesis is to clarify the mechanisms of Hg methylation/demethylation by the sulfate reducing strain P. hydrargyri BerOcl. For that, we will focus on the role of several genes suspected to be involved in the processes by comparing the wild strain with knockout mutants, as well as other SRBs that only demethylate MeHg. Our specific objectives are to specify:*

1. *Hg uptake: Is Hg methylation governed by the first steps of the process (ie, recognition and uptake of mercury)? What is the external form of the metal and, how the Hg form affects its uptake?*
2. *Hg export: Does Hg and/or MeHg export also control (at least partially) the Hg methylation/demethylation processes?*
3. *Role of metabolites: How metabolites (thiols, S-compounds and others) produced by bacteria affect Hg species trafficking across the cell?*

*For that, the candidate will implement an approach based on elemental imaging techniques (transmission electron microscopy, synchrotron nano-X ray fluorescence...) and X-ray absorption spectroscopy (Xanes, Exafs) to localize Hg at the cell level and determine its speciation (Isaure et al. 2020). The PhD student will also carry out bacterial culture, and quantification of Hg and MeHg (GC-ICP MS).*

## **III. Plan de travail / Work plan**

- 1- Etude bibliographique
  - 2- Cultures bactériennes, croissances bactériennes et quantification du mercure inorganique et MeHg (GC-ICP MS)
  - 3- Mise au point des techniques d'imagerie élémentaire (TEM-EDS, nano XRF)
  - 4- Détermination de la spéciation de Hg par spectroscopie d'absorption des rayons X (XAS).
- Le travail de thèse implique des déplacements (travail en collaboration avec le BIC à Bordeaux, expériences synchrotron).

- 1- *Bibliographic study*
  - 2- *Microbes cultures, growth and quantification of inorganic Hg and MeHg (GC-ICP MS)*
  - 3- *Set-up of chemical imaging (TEM-EDS, nano XRF)*
  - 4- *Hg speciation by X-ray absorption spectroscopy (XAS).*
- The PhD work requires travels (collaboration with BIC in Bordeaux, synchrotron experiments)*

## **IV. Références bibliographiques (Literature References)**

Parks JM, Johs A, Podar M, Bridou R, Hurt RA, Smith SD, Tomanicek SJ, Qian Y, Brown SD, Brandt CC, Palumbo AV, Smith JC, Wall JD, Elias DA, Liang L. 2013. The Genetic Basis for Bacterial Mercury Methylation. *Science*, 339, 1332–1335.

Isaure MP, Albertelli M, Kieffer I, Tucoulou R, Petrel M, Gontier E, Tessier E, Monperrus M, Goni-Urriza M. 2020. Relationship between Hg speciation and Hg methylation/demethylation processes in the sulfate-reducing bacterium *Pseudodesulfovibrio hydrargyri*: evidences from HERFD- XANES and nano-XRF. *Frontiers in Microbiology*, 11, 584715.

## COMPETENCES REQUISES / REQUIRED COMPETENCES

Le/la candidat(e) doit être diplômé(e) d'un master en chimie environnementale, géosciences, physico-chimie, microbiologie ou équivalent. Il/elle devra avoir un fort intérêt pour le travail expérimental en laboratoire. Il/elle devra être capable de travailler en autonomie et être rigoureux. Un intérêt pour le travail interdisciplinaire est nécessaire (travail avec des microbiologistes, biogéochimistes, chimistes et physiciens). Bonnes capacités de rédaction. Anglais requis.

*The candidate should hold a master degree in environmental chemistry, geosciences, physico-chemistry, microbiology or equivalent. He/she should have strong interest in performing laboratory work. He/she will be able to work autonomously and rigorously. He/she will be interested by interdisciplinary work (work with microbiologists, biogeochemists, chemists, and physicists). Skills in writing. French speaking would be a plus.*

## CRITÈRES D'ÉVALUATION DE LA CANDIDATURE / CRITERIA USED TO SELECT CANDIDATE

Processus de sélection / Selection process steps):

- Constitution d'un Jury de sélection / Establishment of the selection committee.
- Sélection des candidats sur dossier de candidature / Evaluation of the applicants cv's.
- Audition des candidats et classement : July / Interview with the selected candidates and ranking.

Critères d'évaluation de la candidature/Criteria used in selection of the candidate:

- La motivation, la maturité scientifique et la curiosité du candidat/The candidate's motivation, scientific maturity and curiosity
- Ses résultats académiques (notes et classement en Licence, M1 et M2)/Candidate's marks and rankings in Licence, M1 and M2.)
- Ses expériences précédentes en recherche / Previous experience in research
- Maîtrise de l'anglais/English proficiency

## CONSTITUTION DU DOSSIER DE CANDIDATURE / REQUIRED DOSSIER,

Le dossier de candidature doit être **impérativement** déposé sur le site du CNRS via le lien suivant :

<https://emploi.cnrs.fr/Offres/Doctorant/UMR5254-SOPPUY-045/Default.aspx>

et doit comprendre deux documents/The application must be submitted on the CNRS website on the link

<https://emploi.cnrs.fr/Offres/Doctorant/UMR5254-SOPPUY-045/Default.aspx>, and must contain 2 files:

- One document pdf avec / 1 pdf file including:
  - Lettre de motivation / Cover letter detailing candidate's motivations
  - Lettres de recommandation / Letters of recommendation
  - Coordonnées de 2 personnes référentes à contacter / Contact details for 2 referees
- The second pdf file should include:
  - CV /CV
  - Copie du diplôme / Copy of the diploma
  - Master ou diplôme équivalent : relevé détaillé des notes obtenues dans chaque matière et classement L3, M1 et M2 / Candidate's MSc or equivalent : marks and ranking from L3, M1 and M2

**DATE LIMITE DE DEPOT DU DOSSIER (limiting date) :** 4 Juillet2022/ July 4<sup>th</sup> 2022

**CONTACTS** e-mail : [marie-pierre.isaure@univ-pau.fr](mailto:marie-pierre.isaure@univ-pau.fr) / [marisol.goni@univ-pau.fr](mailto:marisol.goni@univ-pau.fr)