

Ecole Doctorale

*Sciences de la Mer et du Littoral*

*Laboratoire de Microbiologie des Environnements Extrêmes*

## **AVIS DE SOUTENANCE DE THESE**

**Le lundi 21 février 2022 à 14h**

à l'Institut Universitaire Européen de la Mer, amphithéâtre "A", Technopôle Brest-Iroise, Plouzané.

**Madame REVEIL MAURANE**

soutiendra une thèse de doctorat sur le sujet suivant :

" Mécanismes d'élimination des ribonucléotides de l'ADN chez les Archaea ".

### **Le jury sera ainsi composé :**

- **MME CLOUET-D'ORVAL BEATRICE**, Directrice de recherche

Univ. Paul Sabatier - Toulouse 3 - TOULOUSE

- **MME CZJEK MIRJAM**, Directrice de recherche

Station Biologique de Roscoff - ROSCOFF

- **M. GASPARUTTO DIDIER**, Chercheur

CEA - GRENOBLE

- **MME HENNEKE GHISLAINE**, Cadre de recherche

IFREMER - Centre Bretagne - PLOUZANE

- **M. JEBBAR MOHAMED**, Professeur des universités

Univ. de Bretagne Occidentale - PLOUZANE

### **invité(e) :**

- **M. MOALIC YANN**, Chercheur

Univ. de Bretagne Occidentale - PLOUZANE

A BREST, le 07 février 2022

Le Président de l'Université de  
Bretagne Occidentale,



**M. GALLOU**

## Thèse Maurane REVEIL – Résumé

**Titre :** Mécanismes d'élimination des ribonucléotides de l'ADN chez les *Archaea*

**Mot clés :** Ribonucléotides, ADN polymérase, RER, contenu en nucléotides, maintenance génomique

**Résumé :** Les ribonucléotides (rNMPs) sont les dommages à l'ADN les plus fréquents. Lorsqu'ils sont incorporés dans l'ADN les rNMPs peuvent avoir un rôle bénéfique de signal. En revanche, s'ils ne sont pas éliminés de l'ADN, ils peuvent causer des instabilités génomiques. Une des principales sources d'incorporation des rNMPs dans l'ADN sont les ADN polymérase dans les trois domaines du vivant. Nos modèles, les *Archaea Pyrococcus abyssi* et *Thermococcus barophilus*, possèdent 2 ADN polymérase répliquatives appartenant à la famille B (PolB) et à la famille D (PolD). Notre objectif est d'étudier les mécanismes permettant l'élimination des rNMPs de l'ADN. Premièrement, nous avons étudié la contribution de l'activité exonucléase de PolB et PolD pour l'élimination des rNMPs. Les résultats montrent que l'activité 3'-5' exonucléase de PolD est plus efficace pour corriger des rNMPs nouvellement incorporés à l'extrémité des amorces comparativement à PolB. Selon nos données de structure, cette différence n'est pas due à une contrainte physique du rNMP dans le site actif exonucléase. Nous avons ensuite étudié la voie de réparation par excision des ribonucléotides (RER) des *Archaea in vitro* et *in vivo*. Nos résultats démontrent que la voie RER est efficace pour corriger les rNMPs appariés et mésappariés. PolB et PolD peuvent être impliquées dans la voie RER, PolB est plus efficace pour l'élimination d'un rNMP apparié alors que PolD serait plus efficace pour corriger un rNMP mésapparié. Nous avons également proposé une voie RER alternative impliquant l'activité 5'-3' exonucléase de Fen1. Pour finir, nous avons déterminé les concentrations des nucléotides intracellulaires de *Thermococcus barophilus*, *Haloferax volcanii* et de leur mutants RNase H afin d'évaluer une possible variation du contenu en nucléotides.

**Title:** Removal mechanisms of embedded ribonucleotides in archaeal DNA

**Keywords:** Ribonucleotides, DNA polymerases, RER, nucleotide pool, genomic maintenance

**Abstract:** Ribonucleotides (rNMPs) are the main non-canonical nucleotides into genomic DNA. Embedded rNMPs in DNA can be used as a positive signal. However, if rNMPs are not removed from the DNA they can cause genomic instabilities. One of the main rNMP incorporation source into DNA are the DNA polymerases of the three domains of life. Our models, the *Archaea Pyrococcus abyssi* and *Thermococcus barophilus* possess 2 replicative DNA polymerases belonging to the B-family (PolB) and the D-family (PolD). We aimed to study the removal mechanisms of embedded ribonucleotides in DNA. First, we studied the contribution of proofreading exonuclease activity of PolB and PolD on rNMP processing. The results indicate that the 3'-5' exonuclease activity of PolD is more efficient in editing newly inserted rNMP at terminal primers than PolB. According to our structural data, this difference cannot be accounted by physical constraint of rNMP into the exonuclease active site. We then studied the archaeal Ribonucleotide Excision Repair (RER) pathway *in vitro* and *in vivo*. Our data demonstrate that RER pathway is efficient to correct both matched and mismatched rNMP. Both PolB and PolD can be involved in RER, PolB is more efficient for matched rNMP removal whereas PolD seems more efficient to correct mismatched rNMP. We also suggested an alternative RER pathway involving the 5'-3' exonuclease activity of Fen1. Finally, we determined the intracellular nucleotide concentration of *Thermococcus barophilus*, *Haloferax volcanii* and their relative RNase H mutants to assess the effect of RNase HIII deletion on the nucleotide pool variation.