

Ecole Doctorale
Sciences de la Mer et du Littoral

Laboratoire de Microbiologie des Environnements Extrêmes

AVIS DE SOUTENANCE DE THESE

Le vendredi 30 novembre 2018 à 9h30

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

Madame LU YANG

soutiendra une thèse de doctorat sur le sujet suivant :

" Functional studies of new protein-protein interactions potentially involved in homologous recombination in hyperthermophilic archaea ".

Le jury sera ainsi composé :

- **MME BASTA-LE BERRE TAMARA, Maître de conférences**
Université Paris-Sud 11 - ORSAY

- **M. BLONDEL MARC, Professeur des univ - Praticien hosp**
Univ. de Bretagne Occidentale - BREST

- **M. FLAMENT DIDIER, Chercheur**
IFREMER - Centre Bretagne - PLOUZANE

- **M. FRANZETTI BRUNO, Directeur de Recherche**
Institut de Biologie Structurale - GRENOBLE

Invité :

- **M. JEBBAR MOHAMED, Professeur des universités**
Univ. de Bretagne Occidentale - PLOUZANE

A BREST, le 16 novembre 2018

Le Président de l'Université
de Bretagne Occidentale,



M. GALLOU

THESE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITE
DE BRETAGNE OCCIDENTALE

ECOLE DOCTORALE N° 598
Sciences de la Mer et du littoral
Spécialité : *Microbiologie*

Par

Yang LU

Functional studies of new protein-protein interactions potentially involved in homologous recombination in hyperthermophilic archaea

Study of interactions between PCNA and Mre11-Rad50 complex & Primase and RadA

Thèse présentée et soutenue à Brest, le 30 Novembre 2018

Unité de recherche : Laboratoire de Microbiologie des Environnements Extrêmes (LM2E), UMR6197, Ifremer, CNRS, UBO

Rapporteurs avant soutenance :

Bruno FRANZETTI
Directeur de recherche, IBS, Grenoble

Tamara BASTA-LE BERRE
Maître de conférences, I2BC, Paris

Composition du Jury :

Examineur
Marc BLONDEL

Professeur, UBO, Brest

Directeur de thèse
Didier Flament

Chercheur, LMEE/Ifremer/UBO, Brest

Invité(s)
Mohamed JEBBAR

Professeur, LM2E/UBO, Brest

Titre : Études fonctionnelles des nouvelles interactions protéine-protéine impliquées potentiellement dans la recombinaison homologue chez les archées hyperthermophiles

Mots clés : Archée hyperthermophile, Réparation/réplication/recombinaison de l'ADN, complexe PCNA/Mre11-Rad50, DNA Primase, recombinaison RadA

Résumé : Les archées hyperthermophiles ont une température optimale de croissance supérieure à 80°C. Les cellules exposées à un stress thermique subissent une augmentation de la sensibilité aux agents induisant des cassures double brin de l'ADN. Les études sur les eucaryotes et bactéries ont démontré que la recombinaison homologue joue un rôle essentiel non seulement dans la réparation de l'ADN, mais aussi dans le redémarrage des arrêts de la fourche de réplication. Les enzymes associées aux étapes initiales de la recombinaison homologue chez les archées sont homologues à celles des eucaryotes, et différentes des analogues bactériens. De plus, plusieurs études ont démontré que les protéines impliquées dans la recombinaison homologue sont essentielles chez les archées hyperthermophiles, soulignant l'importance biologique de cette voie de réparation chez ces organismes particuliers. Le rôle de la recombinaison homologue pour la stabilité génomique a été bien étudié chez les eucaryotes et les bactéries, cependant, peu de ses propriétés fonctionnelles ont été étudiées chez les archées hyperthermophiles.

Pour mieux comprendre le mécanisme de recombinaison homologue impliquée au niveau de la maintenance génomique chez les archées, un réseau d'interactions protéine-protéines a été révélé précédemment au laboratoire à partir des protéines de *Pyrococcus abyssi*. Ces travaux ont démontré de nouvelles interactions où interviennent les protéines de la réplication et les protéines de la recombinaison de l'ADN. L'objet de cette étude de thèse est de présenter deux interactions : PCNA/Mre11-rad50 (MR) complexe et Primase/RadA. Pour la première fois chez *P. furiosus*, une interaction physique et fonctionnelle a été démontré entre le PCNA et le complexe MR (l'initiateur de HR). Un motif, situé en position C-terminale de Mre11, permet l'interaction avec PCNA. PCNA stimule l'activité endonucléase du complexe MR à distance proche de l'extrémité 5' d'une cassure double brin. Cette propriété est en accord avec l'intervention ultérieure des enzymes assurant la suite du mécanisme de réparation par recombinaison homologue. Par ailleurs, les protéines RadA, Primase et P41 ont été produites et purifiées. Leurs fonctions enzymatiques ont été confirmées. Cependant, nous n'avons pas pu caractériser la fonction de l'association de RadA/Primase.

Title : Functional studies of new protein-protein interactions potentially involved in homologous recombination in hyperthermophilic archaea

Keywords: Hyperthermophilic archaea, DNA repair/replication/recombination, PCNA/MR complex, Primase/RadA

Abstract: Hyperthermophilic archaea (HA) are found in high-temperature environments and grow optimally above 80°C. Usually, cells exposed to heat stress display an increased sensitivity to agents inducing double-stranded DNA breaks (DSBs). Studies in Eukaryotes and Bacteria have revealed that homologous recombination (HR) plays a crucial role not only in DNA DSBs repair, but also in the collapsed/stalled DNA replication fork restart. Recombinase and various HR-associated enzymes in archaea specifically resemble the eukaryotic homologues, rather than bacterial homologues. Furthermore, several studies have demonstrated the necessity of HR proteins in HA, suggesting that, HR is an important mechanism in HA. HR influencing genome stability has been well studied in Eukaryotes and Bacteria, however, few of its functional properties have been studied in HA.

To better understand how HR mechanism is involved in the archaeal genome maintenance process, a previous work proposed a protein-protein interaction network based on *Pyrococcus abyssi* proteins. Through the network, new interactions involving proteins from DNA replication and DNA recombination were highlighted. The targets of the study presented here for two protein interaction are: PCNA/Mre11-rad50 complex (MR complex) and Primase/RadA. For the first time in *P. furiosus*, we showed both physical and functional interactions between PCNA (*Maestro* in DNA replication) and MR complex (initiator of HR). we have identified a PCNA-interaction motif (PIP) located in the C-terminal of Mre11, and shown that PCNA stimulated MR complex endonuclease cleavage proximal to the 5' strand of DNA DSBs at physiological ionic strength. For the second interaction, we have purified the proteins *PabRadA/PfuRadA*, *PabPrimase* and *PabP41*, and confirmed its enzymatic functions. However, we were not able to characterize the function of Primase/RadA association.