



Université de Bretagne Occidentale

Ecole Doctorale

*Sciences de la Mer et du Littoral*

*Laboratoire de Microbiologie des Environnements Extrêmes*

**AVIS DE SOUTENANCE DE THESE**

**Le mercredi 1 juillet 2020 à 14h**

à l' Institut Universitaire Européen de la Mer, Technopôle Brest-Iroise, Plouzané, en visioconférence

**Monsieur HARTUNIANS JORDAN**

soutiendra une thèse de doctorat sur le sujet suivant :

" High temperature H2 bio-production in Thermococcales models : setting up bases optimized high pressure solutions ("Bio-production d'H2 à haute pression et haute température chez des modèles de Thermococcales bases pour des solutions de haute pression optimisées ")".

**Le jury sera ainsi composé :**

- **MME BONCH-OSMOLOVSKAYA ELIZAVETA, Professeure**  
Winogradsky Institute Microbiolo - MOSCOU 117312 - RUSSIE
- **M. DUFOUR ALAIN, Professeur des universités**  
Université de Bretagne Sud - LORIENT
- **MME GODFROY ANNE, Cadre de Recherche**  
IFREMER - Centre Bretagne - PLOUZANE
- **MME GORLAS AURORE, Maître de conférences**  
Université Paris Sud - ORSAY
- **M. HOLDEN JAMES F., Professeur**  
Université du Massachusetts - AMHERST, MA 01003 - ETATS-UNIS
- **M. JEBBAR MOHAMED, Professeur des universités**  
Univ. de Bretagne Occidentale - PLOUZANE
- **M. WU LONF-FEI, Directeur de Recherche**  
CNRS - INSB - MARSEILLE 09EME

**invité(e) :**

- **M. FRAGNE FREDERIC,**
- SAINT-ROGATIEN

A BREST, le 22 juin 2020

Le Président de l'Université de  
Bretagne Occidentale,



**M. GALLOU**

## Bio-production d'H<sub>2</sub> à haute température chez des modèles de Thermococcales : bases pour des solutions de haute pression optimisées (HPBioHyd)

Résumé : L'H<sub>2</sub>, vecteur d'énergie prometteur, peut être synthétisé par les Thermococcales. La haute pression (HP) influencerait le métabolisme associé, mais n'a pas été envisagée en pratique. Après criblage d'isolats pour dégradations de substrats et productions d'H<sub>2</sub>, *T. barophilus* MPT, croissant préférentiellement à 40 MPa, a été choisi comme modèle, et sa fermentation a été décrite dans un contexte appliqué. Des méthodes HP ont été optimisées pour étudier l'H<sub>2</sub>. Un bioréacteur de 400 mL de culture continue a été amélioré, maintenant des fluides corrosifs à HP hydrostatique (jusqu'à 120 MPa) et gazeuse (jusqu'à 40 MPa) jusqu'à 150 °C. Il a permis de mesurer la production d'H<sub>2</sub> de notre souche à HP gazeuse. Un tube compressible pour culture discontinue à phase gaz étanche a été inventé, et a servi à mesurer la production d'H<sub>2</sub> de *T. barophilus* en HP hydrostatique. Le métabolisme HP de la souche a été étudié grâce à des délétions préalables de gènes

clés (*mbh*, *mbs*, *co-mbh*, *shI*, *shII*). Les rôles des enzymes liées ont été précisés via des mesures de croissances, produits (H<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, acétate) et expressions génétiques des mutants, à 0,1 et 40 MPa. La tolérance à l'H<sub>2</sub> de *T. barophilus* a été augmentée par évolution adaptative en laboratoire. « Evol », la souche fille acclimatée durant 76 générations à une saturation d'H<sub>2</sub>, a crû dans 10% d'H<sub>2</sub>, contrairement à la souche mère. Pour comprendre ces adaptations, les produits (H<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, acétate), transcriptomes et génomes des deux souches ont été comparés. Avec 119 mutations génomiques, le métabolisme de l'H<sub>2</sub> a été modifié dans le variant. Ce projet souligne l'intérêt du caractère piézophile des Thermococcales dans la bio-production d'H<sub>2</sub> et permet de proposer des stratégies d'H<sub>2</sub> et permet de proposer des stratégies d'optimisation.

### High temperature H<sub>2</sub> bio-production in Thermococcales models: setting up bases for optimized high pressure solutions

Abstract: H<sub>2</sub>, a promising energetic vector, can be synthesized by Thermococcales. High pressure (HP) could influence the associated metabolism, but was not practically considered. After having screened isolates for assets in substrate degradation and H<sub>2</sub> yields, *T. barophilus* MPT, growing optimally at 40 MPa, was chosen as a model and its metabolism was characterized in an applied context. Methods for HP culture were optimized for H<sub>2</sub> studies. Our HP bioreactor for continuous culture underwent major improvements. This 400 mL container, able to maintain corrosive fluids at hydrostatic (up to 120 MPa) and gas (up to 40 MPa) pressures, at up to 150 °C, served to assess H<sub>2</sub> production of our strain at high gas pressure. We also created a compressible device for discontinuous leak-free gas-phase incubations, allowing to measure *T. barophilus* HP H<sub>2</sub> production (hydrostatic). HP adaptations of *T. barophilus* were observed thanks to previous deletions of key genes (*mbh*, *mbs*, *co-mbh*, *shI*, *shII*). We refined the roles of each concerned enzyme by assessing growths, end-products (H<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, acetate), and gene expressions of the mutants, at 0.1 and 40 MPa. Additionally, we enhanced H<sub>2</sub> tolerance in our model by adaptive laboratory evolution. "Evol", the ensuing strain acclimatized to H<sub>2</sub>-saturating conditions for 76 generations, grew in 10% H<sub>2</sub>, contrarily to the parent strain. To understand such adaptation, we compared both strains' end-products (H<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, acetate), transcriptomes, and genomes. 119 mutations were detected and the H<sub>2</sub> metabolism was changed in the new variant. This work underlines the interest of Thermococcales' piezophily for H<sub>2</sub> bio-production and permits to propose optimization strategies.