



LABORATOIRE	
Nom / <i>Name</i> Affiliation / <i>Affiliation</i>	UMR8227 CNRS-Sorbonne Université, Laboratoire de Biologie Intégrative des Modèles Marins, Station Biologique de Roscoff
Directeur / <i>Head</i>	Stéphane Egée
Adresse / <i>Address</i>	Station Biologique de Roscoff Place Georges Teissier, CS 90074, 29688 Roscoff, France
EQUIPE d'ACCUEIL / <i>Host team</i>	
Nom / <i>Name</i>	Equipe Glycobiologie Marine (GM)
Responsable d'équipe / <i>Team leader</i>	Mirjam Czjzek
Responsables d'encadrement / <i>Responsible for supervision</i>	Maéva Brunet (Doctorante), mbrunet@sb-roscoff.fr François Thomas (Chargé de recherche CNRS), fthomas@sb-roscoff.fr Tristan Barbeyron (Ingénieur de recherche CNRS), barbeyron@sb-roscoff.fr

Titre du sujet : Identification de nouvelles fucanases chez une bactérie marine dégradant les macroalgues

Contexte :

Les macroalgues sont des producteurs primaires majeurs des environnements côtiers et représentent donc un important réservoir de matière organique à travers le monde. La paroi de ces macroalgues est composée jusqu'à 50% de polysaccharides complexes. Les FCSP (polysaccharides contenant des fucoses sulfatés) et l'alginate sont des polysaccharides spécifiques et majoritaires des algues brunes. 90% de la dégradation de ces parois algales est réalisée par les microorganismes, qui permettent ainsi le recyclage d'une importante quantité de carbone.

Dans l'équipe 'Glycobiologie Marine', la bactérie marine hétérotrophe *Zobellia galactanivorans* Dsij^T est utilisée comme modèle d'étude pour comprendre les mécanismes régissant la dégradation algale. Le séquençage et l'annotation de son génome ont permis de révéler la présence de nombreux gènes codant pour des enzymes actives sur les polysaccharides algaux (Carbohydate Active enZymes, CAZymes). Elle possède par exemple sept alginate lyases qui catalysent la dégradation de l'alginate. En revanche, à ce jour, aucun gène codant pour des enzymes actives sur les FCSP (fucanases) appartenant à des familles de protéines connues n'a été prédit. Cependant, des résultats récents mettent en évidence la capacité de *Z. galactanivorans* à croître à partir de FCSP purifiés et à sécréter des enzymes dégradant ces polysaccharides en oligosaccharides de petites tailles, suggérant ainsi la présence de CAZymes originales.

Objectifs du stage :

Le stage proposé porte sur la purification et l'identification de fucanases originales chez *Z. galactanivorans*. Pour cela, l'étudiant(e) sera amené(e) à réaliser des cultures en milieu minimum en présence de FCSP comme seules sources de carbone dans le but de produire les fucanases de *Z. galactanivorans*. Leur purification nécessitera une phase de développement et consistera à isoler les fucanases du surnageant de culture par précipitation au sulfate d'ammonium, puis à éluer ces enzymes sur colonne échangeuse d'ions à l'aide d'un gradient de NaCl. Les fractions actives sur les FCSP seront regroupées, concentrées et chargées sur colonne d'exclusion de taille. La structure primaire des nouvelles fucanases sera identifiée par spectrométrie de masse de type LC-MS/MS.

Dans un second temps, l'objectif sera d'identifier dans le génome de *Z. galactanivorans* les



gènes codant pour la (les) enzyme(s) mise(s) en évidence, d'analyser leur contexte génomique et leur niveau d'expression lors de la croissance à partir de polysaccharides purifiés ou d'algues brunes fraîches (données transcriptomiques disponibles au début du stage). Enfin, des homologues des gènes identifiés seront recherchés dans le génome d'autres bactéries marines afin d'évaluer leur prévalence dans l'environnement.

Les résultats attendus s'inscrivent dans le cadre d'une thèse en cours au sein du projet de recherche ALGAVOR. Ils permettront de décrire des polysaccharidases encore inconnues et de progresser dans la compréhension des voies métaboliques impliquées dans la dégradation d'algues brunes fraîches par les bactéries marines.

Techniques utilisées :

- Cultures bactériennes
- SDS-PAGE, C-PAGE (électrophorèse de carbohydrates sur gel de polyacrylamide)
- Chromatographie (échange d'ion, exclusion de taille)
- Ultrafiltration
- Purification et dosage de protéines
- LC-MS
- Outils bio-informatiques

Durée du stage : 6 mois, début envisagé en janvier / février 2020

Gratification : 568,76 € / mois

Profil recherché : Étudiant(e) motivé(e), persévérant(e) et sachant travailler en équipe. Des connaissances fondamentales en microbiologie, ainsi que des bases en analyse de séquences sont nécessaires. La pratique antérieure de techniques séparatives sera un atout pour le/la candidat(e).

Le CV et la lettre de motivation doivent être envoyés par email à mbrunet@sb-roscoff.fr, fthomas@sb-roscoff.fr et barbeyron@sb-roscoff.fr.

Sélection de publication de l'équipe en lien avec le projet :

Colin, S. *et al.* (2006) 'Cloning and biochemical characterization of the fucanase FcnA: definition of a novel glycoside hydrolase family specific for sulfated fucans', 16(11), pp. 1021–1032. doi: 10.1093/glycob/cwl029.

Thomas, F. *et al.* (2012) 'Characterization of the first alginolytic operons in a marine bacterium: from their emergence in marine Flavobacteriia to their independent transfers to marine Proteobacteria and human gut Bacteroides', 14, pp. 2379–2394. doi: 10.1111/j.1462-2920.2012.02751.x.

Barbeyron, T. *et al.* (2016) 'Habitat and taxon as driving forces of carbohydrate catabolism in marine heterotrophic bacteria: example of the model algae-associated bacterium *Zobellia galactanivorans* Dsij^T', 18, pp. 4610–4627. doi: 10.1111/1462-2920.13584.

Deniaud-Bouët, E. *et al.* (2017) 'A review about brown algal cell walls and fucose-containing sulfated polysaccharides: Cell wall context, biomedical properties and key research challenges', *Carbohydrate Polymers*. Elsevier Ltd., 175, pp. 395–408. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.07.082.