



Stage de Master 2 MNHN

Approches combinées de chimie et de génomique pour identifier des métabolites originaux et leurs voies de biosynthèse produits par une souche endophyte d'algue brune.

ENCADRANTS : PRADO Soizic et Li Yanyan

Contacts : sprado@mnhn.fr et li.yanyan@mnhn.fr

Lieu : Muséum national d'Histoire naturelle. UMR 725 MNHN/CNRS. 63 rue Buffon 75005 Paris

DESCRIPTION DE L'EQUIPE (PORTEUR, EVENTUEL COPORTEUR ET PARTICIPANTS)

Nom, Prénom	Unité/Service de rattachement	Statut	Rôle dans le projet
Soizic Prado	UMR 7245 (MCAM), Equipe Chimie des Produits Naturels Fongiques et Bactériens (CPNFB)	PR	Encadrement de la partie chimie des produits naturels.
Yanyan Li	UMR 7245 (MCAM), Equipe Biochimie des Interactions Microbiennes (BIM)	CR1 CNRS	(co-encadrante). Encadrement de la partie biosynthèse (annotation des génomes, construction de mutants de clusters de gènes de biosynthèse)

RESUME DU PROJET DANS LEQUEL S'INSCRIT LE STAGE¹

(500 caractères espaces compris maximum, hors références bibliographiques (10 maximum) ; une seule figure autorisée)

Les interactions algue-microbiote sont médiées par des molécules encore mal caractérisées. Une souche de *Streptomyces* issue du microbiote de l'algue brune *Saccharina latissima* produit des composés originaux jamais identifiés et capables d'inhiber des pathogènes d'algue que nous chercherons à caractériser par des approches combinées de génomique et de chimie. Ce projet s'insèrera dans un projet collaboratif international qui fait l'objet d'un dépôt auprès de l'ANR et du programme EC2CO CNRS.

References

Egan, S., Harder, T., Burke, C., Steinberg, P., Kjelleberg, S., and Thomas, T. (2013). The seaweed holobiont: understanding seaweed–bacteria interactions. *FEMS Microbiol. Rev.* 37(3), 462-476. doi: 10.1111/1574-6976.12011. Singh, R.P., and Reddy, C.R. (2015). Unraveling

¹ Préciser si le projet fait l'objet d'un financement dans un cadre régional, national, européen ou international.

the Functions of the Macroalgal Microbiome. *Front. Microbiol.* 6, 1488. doi: 10.3389/fmicb.2015.01488.

Tourneroché, A., Lami, R., Hubas, C., Blanchet, E., Vallet, M., Escoubeyrou, K., et al. (2019). Bacterial-Fungal Interactions in the Kelp Endomicrobiota Drive Autoinducer-2 Quorum Sensing. *Front. Microbiol.* 10, 1693. doi: 10.3389/fmicb.2019.01693.

M. Vallet, M. Strittmatter, P. Murúa, S. Lacoste S, J. Dupont, C. Hubas, G. Genta-Jouve, CMM Gachon CMM, GH Kim, S. Prado. Chemically-Mediated Interactions Between Macroalgae, Their Fungal Endophytes, and Protistan Pathogens. *Front. Microbiol.* 2018 Dec 21; 9: 3161.

DESCRIPTIF DU STAGE

(5000 caractères espaces compris maximum)

- Contexte scientifique ou opérationnel, valeur ajoutée du stage dans ce contexte

La structure et les fonctions du microbiome associé aux macro-algues marines commencent tout juste à être caractérisées. Chez les macro-algues, les analyses récentes de génomique et de métagénomique ont mis en évidence que ces dernières vivent en association avec des microorganismes, bactéries ou eucaryotes, épiphytes ou endophytes, qui peuvent entretenir des relations variées allant de la symbiose au parasitisme et qui sont souvent médiées par la production de médiateurs chimiques. Il est par ailleurs à présent établi que certains de ces microorganismes influent sur le développement, la défense ou bien la croissance de leurs hôtes.¹ Cependant ces connaissances sont encore très éparses et à ce jour très peu de composés ont été caractérisés tant du point de vue de leur nature chimique, de leurs mécanismes de production que de leur rôle écologique.

Dans ce contexte nous avons caractérisés le microbiote cultivable et non cultivable de l'algue brune *S. latissima*. Parmi les souches, une souche de *Streptomyces* apparaît particulièrement intéressante de par sa capacité à produire des composés originaux et actifs envers des pathogènes d'algues. De plus les souches de *Streptomyces* sont connues pour être une source de composés originaux dotés d'activités antimicrobiennes prometteuses.²

- Objectifs du stage

Les objectifs du stage seront donc de :

1) isoler et élucider les structures des composés originaux 2) appréhender le potentiel biosynthétique de la souche de *Streptomyces* par des analyses *in silico* d'annotation de clusters de gènes de biosynthèses (BGCs)², 3) identifier les mécanismes biosynthétiques des composés isolés afin de 4) mieux comprendre le rôle écologique de ces composés dans le contexte des interactions algues-microbiote et vis-à-vis de pathogènes.

- Méthodes et techniques employées

L'optimisation de la culture de la souche ainsi que l'annotation du métabolome ont déjà été réalisés au laboratoire. Nous nous concentrerons donc spécifiquement sur les composés originaux n'apparaissant pas dans les banques de données de produits naturels.

- 1) Isolement et caractérisation structurale des composés nouveaux : Les composés seront isolés par les méthodes séparatives disponibles au laboratoire (HPLC, LH-20) et leur structures seront analysées par méthodes spectroscopiques, principalement par spectrométrie de masse (SM) et résonance magnétique nucléaire (RMN) à une et deux dimensions.
- 2) Le génome de la souche de *Streptomyces* est en cours de séquençage. Des analyses *in silico* (AntiSMASH) seront réalisées afin d'identifier les clusters de gènes de biosynthèse des métabolites (polyketides (PKS), peptides non ribosomiaux (NRPS), hybrides PKS-NRPS, terpènes etc..).
- 3) Afin de comprendre les mécanismes de biosynthèse des composés nouvellement découverts, les gènes putatifs de biosynthèse seront inactivés par recombinaison homologue chez *Streptomyces*. Les voies de biosynthèse seront proposées grâce à la prédiction des fonctions des protéines. En fonction du temps imparti, des études biochimiques des enzymes clefs seront réalisées *in vitro*.
- 4) Les composés isolés seront testés pour leur capacité à inhiber la croissance de pathogènes d'algues d'intérêt commercial et disponibles au laboratoire (bactéries, oomycètes, champignon).

Références :

1. Singh, R. P.; Reddy, C. R. *Front Microbiol* 2015, 6, 1488.
2. Kolter R and van Wezel GP. *Nat Microbiol* 2016, 1:15020.
3. Blin K et al. *Nucleic Acids Res.* 2017, 45(W1):W36-W41.

SELECTION DE 5 PUBLICATIONS RECENTES DU PORTEUR ET/OU DES PARTICIPANTS

-Mevaere J, Goulard C, Schneider O, Sekurova ON, Ma H, Zirah S, Afonso C, Rebuffat S, Zotchev SB, Li Y. An orthogonal system for heterologous expression of actinobacterial lasso peptides in *Streptomyces* hosts. *Sci Rep.* 2018 May 29;8(1):8232.

- Li Y, Ducasse R, Zirah S, Blond A, Goulard C, Lescop E, Giraud C, Hartke A, Guittet E, Pernodet JL, Rebuffat S. Characterization of Sviceucin from *Streptomyces* Provides Insight into Enzyme Exchangeability and Disulfide Bond Formation in Lasso Peptides. *ACS Chem Biol.* 2015 Nov 20;10(11):2641-9.

- Vallet M, Vanbellinghen QP, Fu T, Le Caer JP, Della-Negra S, Touboul D, Duncan KR, Nay B, Brunelle A, Prado S. An Integrative Approach to Decipher the Chemical Antagonism between the Competing Endophytes *Paraconiothyrium variabile* and *Bacillus subtilis*. *J Nat Prod.* 2017 Nov 22;80(11):2863-2873.

- Amand S, Vallet M, Guedon L, Genta-Jouve G, Wien F, Mann S, Dupont J, Prado S, Nay B. A Reactive Eremophilane and Its Antibacterial 2(1H)-Naphthalenone Rearrangement Product, Witnesses of a Microbial Chemical Warfare. *Org Lett.* 2017 Aug 4;19(15):4038-4041.

- M. Vallet, M. Strittmatter, P. Murúa, S. Lacoste S, J. Dupont , C. Hubas, G. Genta-Jouve , CMM Gachon CMM, GH Kim, S. Prado. Chemically-Mediated Interactions Between Macroalgae, Their Fungal Endophytes, and Protistan Pathogens. *Front Microbiol.* 2018 Dec 21; 9: 3161.