

Proposition de stage

Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : Institut de Minéralogie, Physique des Matériaux et Cosmochimie (IMPMC)

Adresse : IMPMC, Case 115, 4 Place Jussieu 75252 Paris cedex 05

Responsable du Laboratoire / Entreprise : Guillaume Fiquet

Responsable de l'encadrement : Benzerara Karim

Téléphone : 01 44 27 98 17

E-mail : karim.benzerara@upmc.fr

Co-encadrant : Julie Leloup

Intitulé : Institut d'Ecologie et des Sciences de l'Environnement de Paris (iEES-Paris)

Adresse : Tour 44-45, 4^e étage, 4 Place Jussieu 75252 Paris cedex 05

Responsable du Laboratoire / Entreprise : Martine Maibeche

Téléphone : 01 44 27 38 26

E-mail : julie.leloup@upmc.fr

2. Description du stage (2 pages maximum) :

Titre : Biominéralisation de CaCO_3 intracellulaire chez *Microcystis*, cyanobactérie formant des proliférations

Mots clés : Biominéralisation ; transcriptomique ; calcium ; gène orphelin ; élément limitant

Contexte et objectifs généraux :

Les cyanobactéries du genre *Microcystis* sont les acteurs majeurs d'efflorescences au sein d'écosystèmes aquatiques eutrophes [1]. La désoxygénation induite de la colonne d'eau déséquilibre de nombreux écosystèmes aquatiques [2]. De plus, les désagréments en termes de coloration et d'odeur des eaux et la production de toxines hépatotoxiques limitent l'usage des plans d'eau. Ainsi de nombreuses études visent à comprendre le déterminisme de ces blooms et la variabilité spécifique et génotypique des populations de *Microcystis* [3].

Nous avons découvert que certaines cyanobactéries formaient des granules intracellulaires de CaCO_3 (iACC) [4, 5]. Elles le font en prélevant de fortes quantités de Ca^{2+} depuis leur milieu [6]. De plus, certaines de ces cyanobactéries semblent avoir besoin pour leur croissance de concentrations de Ca^{2+} plus fortes que les cyanobactéries ne formant pas d'iACC [7]. Nous avons identifié un gène, nommé *ccyA*, dont la présence est corrélée à la capacité d'une souche à former des iACC (article in prep). Bien que nous ayons corrélé la présence de ce gène avec la capacité des souches à former des iACC, et malgré l'existence d'hypothèses fondées sur des prédictions bioinformatiques, nous ignorons encore la fonction de ce gène orphelin.

Dans ce contexte, le genre *Microcystis* est particulièrement intéressant car il contient des souches formant des iACC, et des souches n'en formant pas. Récemment, nous avons montré que parmi

les 25 souches de *Microcystis* de la collection du MNHN isolées à partir du plan d'eau de Champs-sur-Marne, 10 forment des iACC et 15 n'en forment pas. A l'aide d'amorces spécifiques, nous avons détecté par PCR le gène *ccyA* dans 11 de ces souches (dont 10 contiennent des iACC). Une hypothèse est que dans les conditions où nous la cultivons, la 11ème souche n'exprime pas *ccyA*. Enfin, nous avons directement amplifié *ccyA* à partir d'efflorescences de Champs-sur-Marne.

Projet de stage :

Ce stage consistera à étudier plusieurs aspects des relations entre la diversité phylogénétique des souches de *Microcystis* de la collection du MNHN, leur diversité phénotypique et notamment leur capacité à former des iACC et enfin leur écologie.

Dans un premier temps, il s'agira d'identifier si les souches possédant le gène *ccyA* ont des besoins plus forts en calcium pour leur croissance en comparaison des souches ne possédant pas *ccyA*. Après avoir établi un protocole rigoureux, il s'agira de suivre la croissance de cultures en triplicat de différentes souches avec des concentrations plus ou moins élevées de Ca dans le milieu. Une réflexion sera développée aussi pour comparer ces concentrations avec celles existant dans le milieu naturel. Au final, ces expériences déboucheront sur une réflexion à propos des possibles rétroactions existant dans le milieu naturel entre teneur en Ca des eaux de Champs sur Marne et abondance des *Microcystis* formant des iACC.

Dans un deuxième volet du stage, il s'agira de suivre l'expression du gène *ccyA* dans des souches formant des iACC et dans la souche n'en formant pas. Des amorces spécifiques du gène ont été dessinées. Des gènes de ménage seront choisis. Il s'agira de plus d'évaluer si l'expression de ce gène est constitutive ou bien si elle est induite dans certaines conditions (par exemple présence/absence de Ca, jour/nuit etc...). Ces expériences déboucheront sur une réflexion à propos des hypothèses envisagées sur la fonction de ce gène.

Enfin, des gradients de densité de Percoll seront établis afin de mettre en évidence et de mesurer les différences de densité des cellules de *Microcystis* formant des iACC par rapport à celles n'en formant pas. Là encore, ceci débouchera sur la proposition d'hypothèses à propos du lien entre l'écologie des souches formant les iACC et leur capacité à en former.

Les objectifs de ce stage M2 sont :

Il s'agira de tester les hypothèses/répondre aux questions suivantes :

- 1) La croissance des souches de la collection formant des iACC est-elle limitée par le Ca ?
- 2) Les cellules formant des iACC sont-elles plus denses ?
- 3) La souche possédant *ccyA* mais chez laquelle aucun iACC n'a été observé exprime-t-elle *ccyA* ?
- 4) L'expression du gène *ccyA* varie-t-elle selon les souches ou certaines conditions ?

Pour cela, il s'agira de mettre au point des protocoles rigoureux d'expériences, développer un certain nombre de manipulations de microbiologie et de biologie moléculaire, analyser rigoureusement et statistiquement les résultats et intégrer les réponses dans des modèles ainsi que formuler d'éventuelles nouvelles hypothèses.

Bibliographie :

- [1] Landsberg, J. H. (2002). The effects of harmful algal blooms on aquatic organisms. **Reviews in Fisheries Science** 10, 113-390
- [2] Paerl, Hans W.; Huisman, Jef (2008) Climate - Blooms like it hot. **Science**, 320, 57-58.
- [3] Sandrini G, Matthijs HCP, Verspagen JMH, Muyzer G and Huisman J (2014) Genetic diversity of inorganic carbon uptake systems causes variation in CO₂ response of the cyanobacterium *Microcystis*. **The ISME Journal** 8, 589–600

- [4] Couradeau, E., Benzerara, K., et al. (2012) An early-branching microbialite cyanobacterium forms intracellular carbonates. **Science** 336: 459–462.
- [5] Benzerara, K., Skouri-Panet, F., et al. (2014) Intracellular Ca-carbonate biomineralization is widespread in cyanobacteria. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 111: 10933–10938.
- [6] Cam N, Benzerara K, et al. (2018) Active biomineralization of intracellular carbonates by high Ca uptake in cyanobacteria. **Geobiology**, 16, 49-61.
- [7] De Wever A, Benzerara K, Coutaud M, Caumes G, Poinot M, Skouri-Panet F, Laurent T, Duprat E, Gugger M (2019) Evidence of high Ca uptake by cyanobacteria forming intracellular CaCO₃ and impact on their growth. **Geobiology**, in press.

Sélection d'autres publications de l'équipe sur le sujet :

- Blondeau M, K. Benzerara, C. Ferard, J-M. Guigner, M. Poinot, M. Tharaud, L. Cordier, F. Skouri-Panet (2018) Impact of the cyanobacterium *Gloeomargarita lithophora* on the geochemical cycles of Sr and Ba. **Chemical Geology**, 483, 88-97.
- Blondeau M, Sachse M Boulogne C Gillet C, Guigner JM, Skouri-Panet F Poinot M Ferard C, Miot J, Benzerara K (2018) Amorphous calcium carbonate granules form within an intracellular compartment in calcifying cyanobacteria. **Frontiers in Microbiology**, 9, #1768.
- Mehta N, Benzerara K, Kocar BD, Chapon V. Sequestration of radionuclides Radium-226 and Strontium-90 by cyanobacteria forming intracellular calcium carbonates. **ES&T**, in press
- Pascault, N., Loux, V., Derozier, S., Martin, V., Debroas, D., Maloufi, S., et al. (2015) Technical challenges in metatranscriptomic studies applied to the bacterial communities of freshwater ecosystems. **Genetica** 143: 157–167.

Ce stage peut-il se poursuivre par une thèse ? : aucun financement n'est assuré mais ce sujet peut être par la suite développé dans le cadre d'une thèse si le/la candidat/e parvient à obtenir une allocation de thèse dans un concours d'ED.