



## Proposition de stage

### Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

#### 1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : UMR CNRS 6226 – Equipe COInt  
Adresse : 2 avenue du Pr Léon Bernard  
Responsable du Laboratoire / Entreprise : Dr M. Fourmigué  
Responsable de l'encadrement : Pr S. Tomasi  
Téléphone : 0223234817  
E-mail : sophie.tomasi@univ-rennes1.fr  
Co-encadrant éventuel : Dr S. Tranchimand/ A. Miral

#### 2. Titre, description du sujet, approches utilisées, références (1 page maximum) :

##### **Isolement de métabolites actifs à partir de l'étude des interactions fongiques/bactériennes présentes au sein du lichen *Rhizocarpon geographicum***

Les lichens sont des organismes symbiotiques qui abritent une flore microbienne diverse constituée de bactéries et de champignons endolichéniques (Bates et al 2011, Hawksworth and Grube 2020). Ces microorganismes développent des moyens de communications et également des moyens de défenses chimiques par l'intermédiaire de la production de molécules signalées et de métabolites spécifiques (Calcott et al 2018). Dans le cadre de l'étude de ce micro-écosystème, il nous a paru intéressant d'isoler à partir d'un lichen incrusté *Rhizocarpon geographicum* une partie de ces micro-organismes cultivables. Nous avons pu ainsi, au cours de cet isolement, visualiser des interactions fongiques et bactériennes avec production de pigments au niveau de la zone de confrontation. Le but de ce stage est d'isoler et de caractériser les métabolites produits au niveau de cette zone et de déterminer leur potentielle activité antibiotique.

Nous mettrons en place des méthodes de co-culture précédemment décrites (Cox et al 2017, Le Goff et al 2012, Bertrand et al 2014) entre champignons et bactéries avec utilisation possible de résines adsorbantes de type Dianion HP-20 ou XAD-7HP lors de la co-culture. Nous nous intéresserons préférentiellement aux zones de confrontation pour identifier les métabolites d'intérêt. Les milieux de cultures gélosés ainsi que les résines seront extraits par des solvants organiques de type acétate d'éthyle. Après profilage chimique des extraits obtenus par HPLC analytique en phase inverse, des fractionnements seront réalisés à l'aide d'une chromatographie Flash sur phase de silice normale et avec des solvants de polarité croissante. Des purifications plus poussées seront réalisées sur des colonnes chromatographiques ouvertes de silice, sur SPE, Sephadex de type LH-20 et par HPLC semi-préparative en phase inverse. Une fois les composés obtenus purs, une analyse structurale sera réalisée par des méthodes spectroscopiques classiques de type UV, IR, RMN 1D et 2D et par spectrométrie de masse haute résolution. L'évaluation de l'activité antibiotique des métabolites obtenus sera réalisée selon la méthode de NCCLS par détermination de la concentration minimale

inhibitrice de croissance de souches bactériennes pathogènes de type *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* (2014).

#### Références :

- Bates, S., Cropsey G., Caporaso J., Knight R., Fierer N. (2011). Bacterial communities associated with the lichen symbiosis. *Appl Environ Microbiol.* 77(4):1309-1314.
- Bertrand, S., Bohni, N., Schnee, S., Schumpp, O., Gindroc, K., Wolfendera, J. (2014). Metabolite induction via microorganism co-culture: A potential way to enhance chemical diversity for drug discovery, *Biotechnology Advances*, Volume 32, Issue 6, 1180-1204.
- Calcott, M.J., Ackerley, D.F., Knight, A., Keyzers, R.A., Owen, J.G., 2018. Secondary metabolism in the lichen symbiosis. *Chem. Soc. Rev.* 47, 1730–1760. <https://doi.org/10.1039/C7CS00431A>
- Cox, G., Sieron, A, King, A., De Pascale, G., Pawlowski, A., Koteva, K., Wright, D. (2017) A Common Platform for Antibiotic Dereplication and Adjuvant Discovery, *Cell Chemical Biology*.
- Hawksworth, D.L., Grube, M., 2020. Lichens redefined as complex ecosystems. *New Phytol.* 227: 1281–1283.
- Le Goff, G., Adelin, E., Cortial, S. (2012). Application of solid-phase extraction to agar-supported fermentation. *Bioprocess Biosyst Eng* 36, 1285–1290.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2004. *Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria: Approved Standard*, 6th edition, Wayne Pa.: NCCLS. ed.