



Proposition de stage

Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

Responsables : Dr. Fabien JOUX (SU) / Pr. Sébastien DUPERRON (MNHN)

Madame, Monsieur,

Le parcours de Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé » est une formation proposée au sein du Master de Sorbonne Université « Biologie Moléculaire et Cellulaire » parcours « Microbiologie » et du Master du MNHN « Evolution Patrimoine Naturel et Sociétés » spécialité « Environnement, Santé ».

Cette formation orientée à la fois recherche et professionnelle vise à répondre aux demandes grandissantes des laboratoires académiques et des entreprises dans des domaines variés comme la recherche fondamentale en écologie microbienne, la valorisation des microorganismes dans l'industrie, les écotecnologies, l'évaluation du risque sanitaire dans l'environnement, le diagnostic environnemental, l'analyse de l'anthropisation des milieux ...

Cette deuxième année de master se déroule en deux parties : un enseignement théorique et pratique de septembre à mi janvier et la réalisation d'un **stage en laboratoire ou dans une entreprise de mi-janvier à mi-juin 2021**. Le stage de Master 2 doit permettre aux étudiants de se familiariser avec une démarche scientifique (faire un bilan des connaissances, identifier les problèmes à résoudre, élaborer des hypothèses, définir un plan d'expérience, mettre en œuvre un protocole, interpréter et discuter des résultats) et de favoriser leur insertion professionnelle.

La durée totale du stage ne doit pas excéder 6 mois. Les étudiants sont gratifiés sur la durée totale de leur stage suivant les règles en vigueur.

L'étudiant aura à réaliser durant la première partie de son enseignement une étude bibliographique en lien avec son projet de stage (thème défini en concertation avec le responsable du stage) ainsi qu'un échéancier des expériences à réaliser pour mener à bien son projet. C'est pour cette raison qu'il est nécessaire que vous nous transmettiez vos propositions de stage le plus tôt possible.

A l'issue du stage, les étudiants auront à rédiger un rapport (d'une trentaine de pages) et à présenter oralement leur travail lors d'une soutenance, confidentielle ou non, prévue fin juin.

Merci par avance pour votre aide à la formation de nos étudiants et pour vos propositions de stages.

Sébastien Duperron & Fabien Joux
Responsables du parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé » (SU-MNHN)

Les propositions de stage sont à renvoyer par e-mail aux adresses suivantes :

Fabien Joux : joux@obs-banyuls.fr

Sébastien Duperron : sebastien.duperron@mnhn.fr

1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : UMR CARTELE

Adresse : 75 bis, Avenue de Corzent, 74200 Thonon-les-Bains

Responsable du Laboratoire / Entreprise : Isabelle DOMAIZON

Responsable de l'encadrement : Stéphan JACQUET

Téléphone : 04 50 26 78 12

E-mail : stephan.jacquet@inrae.fr

2. Titre, description du sujet, approches utilisées, références :

Détection d'un ou plusieurs BALOs au moyen de sondes oligonucléotides

Nos travaux menés dans le cadre du projet C-BALO (2017-2020) ont révélé que les *Bdellovibrio* et organismes apparentés (bactérie prédatrice obligatoires d'autres bactéries) sont omniprésents dans les grands lacs péri-alpins (Annecy, Bourget, Léman), et susceptibles d'y jouer un rôle fonctionnel important (Paix et al. 2019, Ezzedine et al. 2020a-c).

Le nouveau projet (C-2-BALO) a pour objectif principal de comprendre la place de ces BALOs au sein des réseaux trophiques, leurs rôles et effets sur les dynamiques et stabilité des écosystèmes microbiens. Les questions auxquelles C-2-BALO souhaite répondre peuvent être résumées comme suit :

- quel est l'impact de la prédation des BALOs sur la structure et la composition des communautés bactériennes ?
- comment, quantitativement et qualitativement, les BALOs contribuent-ils directement (par prédation) et indirectement (par exemple en décomposant les flocs/biofilms) à la mortalité bactérienne et à la libération de nutriments, c'est-à-dire au turnover bactérien ?
- quelles relations entretiennent-ils avec les autres micro-prédateurs (e.g. comme d'autres bactéries prédatrices comme les *Myxobacteria*), les phages et les protistes ?

Pour déterminer le rôle et l'impact des BALOs comme agents de mortalité cellulaire, leur importance sur les flux de nutriments, un effort devra être continué puis mené sur la quantification et l'identification précise des prédateurs ainsi que sur les dynamiques d'interactions proie-prédateur. Cela sera effectué en continuant de combiner le séquençage à haut débit et la qPCR (avec de la ddPCR pour *Bacteriovorax* de par leur faible abondance, un instrument disponible au CARTELE), et surtout sur des échelles de temps courtes, afin de suivre et d'identifier les prédateurs et leur dynamique de manière précise. L'approche computationnelle en corrélant statistiquement les fluctuations/co-occurrences en termes d'abondance des populations Gram- à celles des populations de BALOs sera aussi poursuivie (Welsh et al. 2015, Ezzedine et al. 2020b).

Après évaluation de leurs avantages et inconvénients, une ou plusieurs autres méthodologies pourront être mises en œuvre. La technique FISH a déjà été appliquée au genre *Bdellovibrio*, via le développement d'une sonde oligonucléotidique. Seulement deux études ont été publiées avec cette approche (Mahmoud et al. 2007 & Szabo et al. 2017) ; elle pourra être complétée et étendue à la cytométrie en flux. Le tri cellulaire actif des proies interagissant avec les prédateurs marqués sera particulièrement encouragé, sachant qu'une nouvelle génération de cytomètre en flux - trieur (un FACS Melody) est disponible au sein du CARTELE. Les populations ainsi triées (single cell approach) seront séquencées pour révéler la composition des populations inter-réagissant, et donc des relations proie-prédateur. L'approche EPIC-PCR (Emulsion, Paired Isolation and Concatenation – PCR), permettant d'isoler des cellules pour une caractérisation génomique facilitée dans la foulée (Spencer et al. 2016), sera également envisagée au travers de collaborations. Là encore, cela permettra de couvrir des interactions directes entre cellules et donc d'obtenir des couples d'interaction proie-prédateur. Enfin, la technique SIP (stable isotope probing) peut être envisagée car, comme cela a été montré par Chauhan et al. (2009) et Dolinšek et al. (2013) pour les BALOs, le flux de nutriments entre des proies marquées et les prédateurs peut effectivement être traqué pour identifier les prédateurs actifs.

C-BALO a travaillé sur plusieurs écosystèmes et essentiellement sur des pas de temps assez long (*i.e.* mensuels). C-2-BALO se focalisera sur le Léman uniquement et examinera les interactions proie-prédateurs à des échelles pertinentes. Spatialement en réalisant deux transect côte-large (l'un partant de la Dranse, la principale rivière alimentant le Léman côté français, l'autre partant de la sortie des eaux usées traitées de la ville de Thonon) dans la colonne d'eau, les biofilms et les sédiments. Temporellement, en travaillant à l'échelle de la semaine à journée, à des périodes clefs.

Dans le cadre de son stage, l'étudiant-e recruté-e aura pour mission de travailler sur 1) l'utilisation et l'optimisation de sondes oligonucléotidiques existantes et/ou à dessiner, ciblant un ou plusieurs BALOs, à partir d'isolements en culture et d'échantillons naturels provenant du Léman