



**Ecologie chimique de la communication cellulaire en milieu marin :
Modulation des interactions algues-microorganismes
par le quorum-sensing**

Laboratoire: LBBM – Laboratoire de Biodiversité et Biotechnologies Microbiennes
Station marine de Banyuls-sur-Mer - Avenue du Fontaulé, 666650 BANYULS SUR MER

Le LBBM est une unité UPMC-CNRS implantée sur le site de Banyuls/Mer, dans les Pyrénées Orientales. La station marine de Banyuls dispose d'une résidence neuve pour l'accueil des étudiants en stage, ainsi que d'un restaurant universitaire.

Responsables de stage: Raphaël LAMI (Maître de Conférences UPMC) et Yoan Ferandin (IE CNRS)

Contact: raphael.lami@obs-banyuls.fr; yoan.ferandin@obs-banyuls.fr; Tel : 04 30 19 24 68
Pour postuler : envoyer CV + notes + lettre de motivation aux deux responsables de stage
Indiquer 2 enseignants ou encadrants pouvant potentiellement vous recommander sur le CV.

Mots clefs: Ecologie chimique, Ecologie microbienne marine, Communication intercellulaire, Quorum-sensing, biologie moléculaire, PCR quantitative.

Contexte du stage :

*Le stage se déroulera dans le cadre d'un projet EC2CO-CNRS en cours, porté par R. Lami au LBBM.
L'étudiant bénéficiera de la gratification réglementaire mensuelle.*

Avec plus de 5×10^5 cellules par millilitre d'eau de mer, les bactéries sont des acteurs majeurs du fonctionnement des écosystèmes marins. Il est bien établi que ces populations sont extrêmement diversifiées du point de vue taxonomique et fonctionnel, mais la connaissance des interactions entre cellules reste très lacunaire. Les microbiologistes ont caractérisé depuis longtemps les mécanismes du quorum-sensing (Fuqua et al., 1994) qui permettent aux bactéries l'appréciation de leur densité de population et qui donnent lieu à une coordination de leurs activités comme la formation de biofilms, la virulence, la bioluminescence et bien d'autres (Swift et al., 2001; Whitehead et al., 2001; Williams et al., 2007). Ces interactions entre bactéries reposent sur l'émission de médiateurs chimiques, principalement les acylhomosérine lactones (AHLs) (Eberhard et al., 1981). Bien que de très nombreuses études aient été menées en laboratoire sur des souches modèles et intéressantes du point de vue médical, la connaissance de la diversité des AHLs, de leurs profils d'expression et de leurs effets dans les communautés naturelles reste très parcellaire, en particulier en milieu marin côtier ou lagunaire (Gram et al., 2002; Romero et al., 2011; Hmelo et al. 2011).

Les *Roseobacter* forment l'un des principaux groupes microbiens aquatique, représentant en moyenne 20-30% des bactéries présentes dans la couche photique, et leur importance dans le fonctionnement de nombreux cycles biogéochimiques a été largement démontrée (Buchan et al., 2005; Wagner Döbler & Bieble, 2006). Le séquençage de génomes de *Roseobacter* marins représentatifs a révélé leur potentialité de communiquer par quorum-sensing à travers l'émission

d'AHLs (Moran et al., 2004). Il a aussi été prouvé que le quorum-sensing intervient chez certains *Roseobacter* dans la production d'antibiotiques et d'autres activités physiologiques (Bruhn et al., 2005). Cependant, si l'importance de mécanismes de quorum-sensing est maintenant bien établie chez ce groupe, très peu de données ont été acquises sur les conditions de leur expression en milieu naturel et leur rôle potentiel. Quelques études récentes, mais encore très peu étayées expérimentalement, suggèrent l'importance potentielle du quorum-sensing dans la coordination cellulaire des *Roseobacter* pour leur permettre d'exploiter la niche écologique que représente la terminaison d'un bloom phytoplanctonique (Hmelo & Van Mooy 2009; Hmelo, 2010). Les blooms d'algues en lagune méditerranéenne représentent un enjeu économique considérable (algues toxiques, qualité des eaux, conchyliculture). Nous proposons ici d'examiner sous un angle novateur (celui de l'implication du quorum-sensing) la question du rôle des interactions bactéries-algues au cours des blooms phytoplanctoniques.

Travail de stage :

Le sujet se divise en 2 volets, combinant des approches *in vitro* et *in situ*

(a) Quels sont les profils d'expression des gènes *luxI*-like du clade *Roseobacter* (codant les AHLs synthèses, enzymes gouvernant la synthèse des médiateurs du quorum-sensing) au cours de blooms phytoplanctoniques en milieu côtier méditerranéen (lagune de Thau) ? La collaboration avec le laboratoire Ecosym de Montpellier-Ifremer (Jean Luc Rolland) mise en place dans le cadre de nos projets nous permet d'échantillonner au cours de 2 printemps les blooms phytoplanctoniques printaniers et d'automne dans la lagune méditerranéenne de Thau. Les prélèvements ont été effectués à un rythme hebdomadaire dès le début du printemps jusqu'à la fin du bloom. Deux fractions seront ciblées, libre (0.2 - 0.8 microns) et attachée aux particules (>0.8 microns) pour cibler les bactéries associées aux algues. Les acides nucléiques totaux seront extraits de ces fractions, et l'abondance des gènes et des transcrits des gènes d'AHL synthèses affiliés à différents groupes de *Roseobacter* sera mesurée par (RT)-PCR quantitative.

(b) Certaines algues peuvent-elles moduler l'induction des voies du quorum-sensing chez les *Roseobacters* Méditerranéens ? Nous proposons de tester l'influence d'extraits de 3 algues méditerranéennes impliquées dans des blooms dans la lagune de Thau sur l'expression du quorum-sensing chez *Maribius* sp. MOLA401. Nous avons intégralement séquencé le génome de cette souche méditerranéenne côtière de *Roseobacter*. Les algues choisies font partie des populations qui blooment en lagune et qui sont cultivées chez nos partenaires à l'Université Montpellier 2. Nous choisirons deux espèces toxiques pour l'homme (*Alexandrium catenalla* (ACT03) et *Pseudo-nitzschia* sp.) et une espèce non toxique (*Alexandrium tamarense* (ATT07)). Le *Roseobacter* ciblé sera mis en culture en présence d'extraits de ces algues. L'expression relative du gène du quorum-sensing *luxI*-like en présence de ces différents extraits, ainsi que par rapport à différents témoins sera évaluée par (RT)-PCR quantitative.

Éléments de bibliographie

Buchan A, Gonzalez JM, Moran MA (2005) Overview of the marine *Roseobacter* lineage. *Appl Environ Microbiol* 71:5665-5677

Bruhn JB, Nielsen KF, Hjelm M, Hansen M, Bresciani J, Schulz S, Gram L (2005) Ecology, inhibitory activity and morphogenesis of a marine antagonistic bacterium belonging to the *Roseobacter* clade. *Appl Environ Microbiol* 71:7263-7270

Eberhard A, Burlingame AL, Eberhard C, Kenyon GL, Nealson KH, Oppenheimer NJ (1981) Structural identification of autoinducer of *Photobacterium* fisheriluciferase. *Biochemistry* 20:2444-2449

- Fuqua WC, Winans SC, Greenberg EP (1994) Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell-density responsive transcriptional regulators. *J Bacteriol* 176:269-275
- Gram L, Grossart HP, Schlingloff A, Kiorboe T (2002) Possible quorum-sensing in marine snow bacteria: production of acylated homoserine lactones by *Roseobacter* strains isolated from marine snow. *Appl Environ Microbiol* 68:4111-4116
- Hmelo LR, Van Mooy BAS (2009) Kinetic constraints on acylated homoserine lactone-based quorum sensing in marine environments. *Aquatic Microbial Ecology* 54:127-133.
- Hmelo LR 2010. Microbial interactions associated with biofilms attached to *Trichodesmium* spp. and detrital particles in the oceans. PhD Thesis MIT/Whoops Hole Oceanographic Institution.
- Hmelo LR, Mincer TJ, Van Mooy BAS (2011) Possible influence of bacterial quorum sensing on the hydrolysis of sinking particulate organic carbon in marine environments. *Environ. Microb. Reports* 6:682-688
- Moran MA et al. (2004) Genome sequence of *Silicibacter pomeroyi* reveals adaptations to the marine environment. *Nature* 432:910-913
- Romero M, Martin-Cuadrado AB, Roca-Rivada A, Cabello A, Otero A (2011) Quorum quenching in cultivable bacteria from dense marine coastal microbial communities. *FEMS Microb Ecol* 75:205-217
- Swift S, Downie JA, Whitehead NA, Barnard AML, Salmond GPC, Williams P (2001) Quorum sensing as a population-density-dependent determinant of bacterial physiology. *Adv Microb Physiol* 45:199-270
- Wagner-Dobler I, Biebl H (2006) Environmental biology of the marine *Roseobacter* lineage. *Annu Rev Microbiol* 60:255-280
- Wagner-Dobler I, Thiel V, Eberl L, Allgaier M, Bodor A, Meyer S, Ebner S, Hennig A, Pukall R, Schulz S (2005) Discovery of complex mixtures of novel long-chain quorum sensing signals in free-living and host-associated marine alphaproteobacteria. *Chembiochem* 6:2195-2206
- Whitehead NA, Barnard AM, Slater H, Simpson NJ, Salmond GP (2001) Quorum sensing in gram negative bacteria *FEMS Microbiol Rev* 25:365-404-5
- Williams P, Winzer K, Chan WC, Camara M (2007) Look who's stalking: communication and quorum sensing in the bacterial world. *Philos T Roy Soc B* 362:1119-1134
- Winans SC, Bassler BL (2008) Chemical communication among bacteria. ASM Press. ISBN 978-1-55581-404-5