



Proposition de Stage de Master 2 Année universitaire 2016 – 2017

EQUIPE D'ACCUEIL :

Intitulé de l'Unité : Institut de Biologie Intégrative de la Cellule (I2BC)

Nom du responsable de l'Unité : Thierry Meinzel

Nom du responsable de l'équipe : Jean-Luc Pernodet

Adresse : 2BC – Université Paris-Sud – Bâtiment 400 – 91400 Orsay

Responsable de l'encadrement de M2 : Sylvie Lautru

Composition de l'équipe :

Nombre d'HDR : 4

Nombre de doctorants : 3

Date(s) prévue(s) de soutenance : 09/2017; 10/2017; 09/2018

Tél : 01 69 15 62 10

Email : sylvie.lautru@i2bc.paris-saclay.fr

INTITULE DE LA PROPOSITION :

Synthèse de nouveaux antibiotiques de type pyrrolamide par biologie de synthèse

RESUME DU PROJET (environ 1 page) :

Les produits naturels sont la source de très nombreuses molécules thérapeutiques, en particulier dans les domaines des antibiotiques et des anticancéreux. De ce fait, une recherche active est menée dans le monde entier, basée sur des méthodes (exploration des génomes) et technologies (déréplication automatisée des produits naturels, criblage haut débit) nouvellement développées, pour découvrir de nouveaux produits naturels microbiens à fort potentiel pharmaceutique. Parallèlement à ces efforts, de nouvelles approches sont récemment apparues pour créer de nouveaux produits naturels "non-naturels". Deux grandes stratégies, non exclusives, sont explorées: la biosynthèse combinatoire et la mutasyntèse. La biosynthèse combinatoire utilise des combinaisons originales de gènes provenant de diverses voies de biosynthèse de produits naturels pour générer des analogues de ces produits. La mutasyntèse vise quant à elle à synthétiser de nouveaux composés en se basant sur la fourniture d'analogues d'intermédiaires synthétisés chimiquement à des souches microbiennes ne synthétisant plus cet intermédiaire. Ces approches ont déjà permis, par exemple, la synthèse de dérivés d'aminocoumarines aux activités antibactériennes meilleures que celle de la novobiocine, utilisée en médecine.

Le laboratoire de Microbiologie Moléculaire des Actinomycètes développe une approche basée sur la biosynthèse combinatoire et la mutasyntèse ayant pour objectif la synthèse de nouvelles molécules bioactives de la famille des pyrrolamides. Les pyrrolamides constituent une famille de métabolites spécialisés produits par des bactéries du genre *Streptomyces*. Ces molécules se lient dans le petit sillon de l'ADN avec une certaine spécificité de séquence (succession d'au moins 4 bases A ou T) et possèdent de ce fait de nombreuses activités biologiques (antibactériennes, antivirales, antifongiques...) mais sont trop toxiques pour être utilisés en médecine. Notre équipe s'intéresse depuis plusieurs années à la biosynthèse de ces molécules et a déjà caractérisé la biosynthèse de plusieurs pyrrolamides, la congocidine, la disgocidine et la distamycine. La caractérisation de la biosynthèse d'autres pyrrolamides (anthelvencine, amidinomycine, pyrromycine) est en cours.

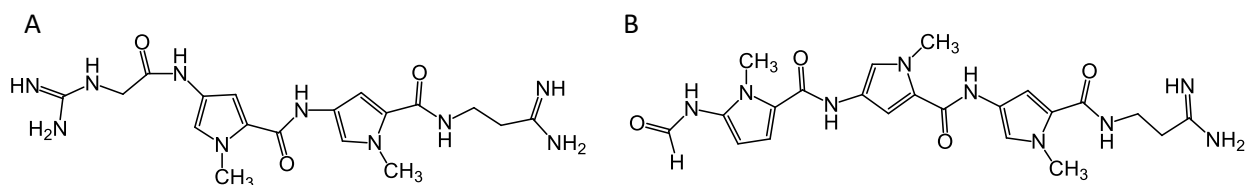


Figure 1: Structure de la congocidine (A) et de la distamycine (B)

Le stage aura pour objectif principal de développer des cassettes de gènes de biosynthèse des précurseurs, d'assemblage de ces précurseurs en pyrrolamides ou de résistance aux pyrrolamides en adoptant une stratégie standardisée de type biologie synthétique. Ces cassettes seront ensuite utilisées pour caractériser les voies de biosynthèse des pyrrolamides étudiés au laboratoire et pour explorer les facteurs (interactions protéines/protéines, spécificité de substrats...) pouvant affecter la réussite des approches de type biosynthèse combinatoire. Ce projet permettra d'acquérir des compétences en biologie moléculaire (PCR, clonages par différentes techniques), en microbiologie (cultures, transformation et conjugaison de souches bactériennes) et de chimie analytique (Chromatographie Flash; SPE; HPLC) pour la purification et caractérisation de métabolites bactériens. La caractérisation structurale des nouveaux métabolites éventuellement obtenus sera effectuée en collaboration avec une équipe de chimistes (Jamal Ouazzani, ICSN, Gif-sur-Yvette ou Laurent Micouin, Université Paris Descartes). Ce projet donne l'opportunité de contribuer à une étude interdisciplinaire alliant la microbiologie moléculaire, la biologie synthétique et la chimie analytique.

MOTS-CLES : produits naturels, biologie de synthèse, biosynthèse combinatoire, antibiotiques, bactéries *Streptomyces*

PUBLICATIONS DE L'ÉQUIPE (maximum 5)

- 1 Medema *et al.*, Minimum information about a biosynthetic gene cluster. **Nat Chem Biol**, 2015, **11**, 625-631
- 2 Vingadassalon A, Lorieux F et al. Natural combinatorial biosynthesis involving two clusters for the synthesis of three pyrrolamides in *Streptomyces netropsis*. **ACS Chem Biol**, 2015, **10**, 601-610.
- 3 Aigle B, Lautru S, et al. Genome mining of *Streptomyces ambofaciens*. **J Ind Microbiol Biotechnol**, 2014, **41**, 251-263
- 4 Lautru S., Song L., et al. A Sweet Origin for the Key Congocidine Precursor 4-Acetamidopyrrole-2-carboxylate **Angewandte Chemie Int. Ed.**, 2012, **51**, 7454-7458
- 5 Juguët M, Lautru S, et al. An iterative nonribosomal peptide synthetase assembles the pyrrole-amide antibiotic congocidine (netropsin) in *Streptomyces ambofaciens*. **Chemistry and Biology**, 2009, **16**, 421-431.

PERSPECTIVES :

- Ce stage peut-il se poursuivre par une thèse ? :
 - Oui
 - Non
 - Remarque éventuelle :
- Si oui, école doctorale de Rattachement : SDSV.....
- Nom de la personne titulaire d'une HDR qui encadrerait la thèse :

Accord de principe pour proposer le sujet à un étudiant de M1 (stage de 7-8 semaines généralement de mi-avril à mi-juin) si votre proposition n'a pas été pourvue par un étudiant de M2 : OUI