

Proposition de stage

Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : UMR7245 Molécules de Communication et Adaptation des Micro-organismes
Adresse : 57 rue Cuvier 75005 Paris
Responsable du Laboratoire / Entreprise : Pr. Philippe GRELLIER
Responsable de l'encadrement : Dr. Marie-Lise BOURGUET KONDRACKI (équipe MCDEM)
Téléphone : 01 40 79 56 06
E-mail : marie-lise.bourguet@mnhn.fr
Co-encadrant éventuel : Pr. Sébastien Duperron (équipe CCE)

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

IDENTIFICATION TAXONOMIQUE ET ETUDE CHIMIQUE DE NOUVELLES CYANOBACTERIES BENTHIQUES DE MANGROVE

Les cyanobactéries (procaryotes photosynthétiques) constituent un groupe de micro-organismes à large répartition occupant une grande diversité d'habitats dans des contextes écologiques très variés, doté de capacités à produire simultanément des toxines et des métabolites secondaires aux activités diversifiées (1). Nombre de ces métabolites ont révélé des propriétés antibactériennes, antifongiques, immunosuppressives, anticancéreuses et antituberculeuses (2-4). Ainsi, les cyanobactéries sont maintenant considérées comme une nouvelle source de composés bioactifs (5) et des souches modèles pour étudier la biosynthèse de ces composés (6).

Au sein de ce groupe toutefois, la diversité et les propriétés des cyanobactéries de zone tropicale, en particulier des espèces benthiques, sont encore méconnues. Ces dernières constituent pourtant des biofilms parfois très denses sur le fond, et participent de manière importante à la productivité des écosystèmes. L'UMR MCAM MNHN-CNRS souhaite s'impliquer dans l'étude de la diversité des cyanobactéries de mangroves tropicales, en particulier de Guadeloupe et de Mayotte. Ces écosystèmes de mangrove sont en effet méconnus et grandement menacés par les activités humaines, tout en fournissant d'importants services puisqu'elle contribue à protéger la ligne de côte de l'érosion, constitue un filtre naturel, et fournit un habitat à de nombreuses espèces d'intérêt. A ce titre, les équipes CCE et MCDEM de l'UMR MCAM ont lancé un programme d'échantillonnage sur le terrain afin d'amorcer l'étude des cyanobactéries benthiques de mangrove, en vue de mieux connaître leur diversité et leur potentiel de production de métabolites d'intérêt. Une campagne d'échantillonnage a déjà eu lieu au cours de l'été 2018, à la Guadeloupe, qui a permis d'obtenir des souches qui sont en cours de stabilisation au laboratoire.

Ce stage marque une étape indispensable dans l'exploration du potentiel de valorisation des souches isolées et en collection, et permettra d'alimenter la collection d'extraits (extractothèque) du MNHN.

Objectifs du stage :

Le/la stagiaire aura pour mission d'étudier de nouvelles souches de cyanobactéries benthiques tropicales isolées en juillet 2018 dans les mangroves de Guadeloupe. Les objectifs spécifiques sont les suivants :

- réaliser l'identification et la caractérisation des souches à travers l'analyse de gènes marqueurs (biologie moléculaire, phylogénie) ainsi que de leurs caractéristiques morfo-anatomiques (microscopies)
- explorer le potentiel chimique des nouvelles souches de cyanobactéries en particulier pour la production de métabolites bioactifs antimicrobiens ou allélopathiques (analyses chimiques et métabolomiques)

Méthodes et techniques employées :

La caractérisation taxonomique des souches de cyanobactéries sera réalisée dans l'équipe CCE et reposera sur un travail de biologie moléculaire (extraction d'ADN, amplification de gènes marqueurs de cyanobactéries par PCR, séquençage, analyse des séquences), de phylogénie (construction d'arbres afin

de replacer les souches dans la phylogénie des cyanobactéries), et de microscopie (observation des caractéristiques structurales et ultrastructurales des souches et comparaison avec les lignées connues). La caractérisation chimique reposera sur l'analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie en tandem (LC-MS²) et la métabolomique par les méthodes analytiques, en particulier en utilisant la chromatographie liquide haute performance (HPLC) et la résonance magnétique nucléaire (RMN). Dans la première approche, la stratégie bio-informatique innovante nommée « réseaux moléculaires ou molecular networking » sera appliquée afin de visualiser les données MS² sous forme de carte de similarité spectrale, et observer ainsi la présence de molécules nouvelles et leurs degrés de similarité. Dans la deuxième approche, les signatures chimiques des souches actives sélectionnées seront établies et les composés d'intérêt seront isolés grâce à un bio-guidage approprié par les méthodes chromatographiques d'adsorption (HPLC/DAD/ELSD). Les structures des molécules actives seront caractérisées par les techniques d'analyse structurale telles que la spectrométrie de masse et la résonance magnétique nucléaire à 1 et 2 dimensions. L'évaluation de l'effet des molécules isolées sera réalisée sur différentes souches de bactéries marines. Ce volet permettra d'évaluer les propriétés allélopathiques et antibactériennes des molécules identifiées.

Références

- (1) Shaieb, F.A.; Issa, A.A.-S.; Meragaa, A. Antimicrobial activity of crude extracts of cyanobacteria *Nostoc commune* and *Spirulina platensis*. *Arch. Biomed. Sci.* **2014**, *2*, 34–41.
- (2) Asmat Ali Shah S, Akhter N, Auckloo B N, Khan I, Yanbin Lu Y, Wang K, Wu B, and Guo Y-W, Structural diversity, biological properties and applications of natural products from Cyanobacteria. A review. *Mar. Drugs* **2017**, *15*, 354.
- (3) Dittmann, E.; Neilan, B.; Börner, T. Molecular biology of peptide and polyketide biosynthesis in cyanobacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2001**, *57*, 467–473.
- (4) Moss NA, Leao T, Glukhov E, Gerwick L, Gerwick H. Collection, Culturing, and Genome Analyses of Tropical Marine Filamentous Benthic Cyanobacteria, *Methods in Enzymology* **2018**, *604*, 3-43.
- (5) Oliveira Alvarenga D et al. Cyanobacteria in mangrove ecosystems. *Biodivers Conserv.* **2015**, *24*,799–817.
- (6) Alongi DM. Present state and future of the world's mangrove forests. *Environ. Conserv.* **2016**, *29*,331-349.