



**MUSÉUM**  
NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

DIRECTION GENERALE DELEGUEE A LA RECHERCHE, A L'EXPERTISE, A LA VALORISATION ET A  
L'ENSEIGNEMENT-FORMATIONS (DGD-REVE)

**APPEL A PROJETS DE FINANCEMENT DE GRATIFICATIONS DE STAGE**  
**POUR L'ANNEE 2019**

**Formulaire de soumission de projet<sup>1</sup>**

**TITRE DU SUJET DE STAGE :**

**GENOMICS-GUIDED CHEMICAL INVESTIGATION OF ENDOPHYTIC STREPTOMYCES FOR NEW  
ANTIBIOTIC DISCOVERY**

**PORTEUR (Nom, Prénom) : Li, Yanyan**

Diplôme le plus élevé (et date d'obtention) : PhD

Statut (chercheur, ingénieur, autre...) : chercheur

Fonction : Chargée de Recherche CNRS

Structure de rattachement (département, direction) : AdV

Parcours et niveau (M1/2) du MASTER concernés : Master 2 MCT/MES MNHN

Unité / Service : Unité Molécules de Communication et Adaptation des Microorganismes  
(MCAM), UMR 7245 CNRS/MNHN

Directeur d'unité / service : Philippe Grellier

Etablissement d'appartenance : CNRS/MNHN

E-mail : yanyanli@mnhn.fr

**DESCRIPTION DE L'EQUIPE (PORTEUR, EVENTUEL COPORTEUR ET PARTICIPANTS)**

Nom, Prénom	Unité/Service de rattachement	Statut	Rôle dans le projet
Li, Yanyan	MCAM	CR CNRS	Porteur, conception du projet, analyse des données
Prado, Soizic	MCAM	PR MNHN	Co-porteur, conception du projet, analyse des données
El-Demerdash, Amr	MCAM	ATER MNHN	Encadrement des manips

<sup>1</sup> Les projets ne seront pris en compte que s'ils sont déposés sur la plateforme de soumission à l'adresse suivante <https://apps.mnhn.fr/DepotAAP/>. Les projets ne se conformant pas à ce formulaire ou ne comportant pas tous les éléments nécessaires à leur évaluation ne seront pas pris en considération.

## **RESUME DU PROJET DANS LEQUEL S'INSCRIT LE STAGE<sup>2</sup>**

*(500 caractères espaces compris maximum, hors références bibliographiques (10 maximum) ; une seule figure autorisée)*

Endophytic microorganisms of eukaryotic hosts, e.g. plants, live in a symbiotic relationship with their hosts. These endophytes are documented to confer physiological benefits to the host, such as nutrient supply and protection against pathogens. The latter function makes endophytes promising sources for new antibiotic discovery. The internship aims to exploit the antagonistic relation between an endophytic *Streptomyces* strain, isolated from brown algae, and known algal or plant pathogens, to identify novel antibiotic compounds. The chemical investigation will be combined with genomic analysis to gain insight into biosynthetic mechanisms. This work is within a large project in progress in the host laboratory, which aims to study the chemical interactions within the endomicrobiota of the marine algae and its impact on algal fitness. This project was funded by CNRS EC2CO program (2016-2018).

---

<sup>2</sup> Préciser si le projet fait l'objet d'un financement dans un cadre régional, national, européen ou international.

**ORIENTATION DU STAGE :** stage orienté recherche X \_\_\_\_\_ stage orienté métier

**MISE EN SITUATION PROFESSIONNELLE :** Laboratoire de recherche X Collections

Galleries  Parc zoologique/Jardin botanique Collections  Autres

(préciser le cas échéant, en 200 caractères maximum)

**CARACTERISTIQUES DU STAGE :**

- Nombre de mois de gratifications demandés au Muséum : 5 mois

- Dates prévues : février 2019

- Date prévue de soutenance du mémoire de Master : Juin 2019

**DESCRIPTIF DU STAGE**

---

(5000 caractères espaces compris maximum)

- Objectifs du stage

The internship aims to 1) isolate and elucidate structures of new molecules with antibiotic activity against plant or algae pathogens; to 2) realize the biosynthetic potential of the *Streptomyces* strain by *in silico* analysis and 3) to identify biosynthetic mechanisms related to newly discovered compounds. Overall, results from this internship will open the avenue to study the ecological roles of these compounds with regard to endophyte-algal host interaction.

- Contexte scientifique ou opérationnel, valeur ajoutée du stage dans ce contexte

In the current context of antimicrobial resistance crisis, exploring ecological interactions in Nature has been suggested and demonstrated to be a promising strategy for new antimicrobial discovery.<sup>1</sup> Endomicrobiota are widespread in higher organisms. These endophytic microorganisms have been recently established to play an important role in the fitness of the host, by providing numerous advantages, notably as protection against invading pathogens.<sup>2</sup> During the course of functional studies of the endomicrobiome of marine algae, we isolated an endophytic *Streptomyces* strain from *Laminaria* which was found to inhibit totally the growth of a plant pathogenic fungi, *Botrytis cinerea*. The genus *Streptomyces* is a well-known prolific source for structurally and functionally diverse natural products. This motivates further genomic and chemical investigation of this strain under conditions of antagonism with algal or plant pathogens.

- Méthodes et techniques employées

The *Streptomyces* strain will be cultivated in various solid media in the presence of chosen pathogens (e.g. *B. cinerea*). When growth inhibition of the pathogen is observed, compounds responsible for this activity will be identified from the cell extracts by bio-activity assays. Following compound isolation by a series of chromatographic methods, the structures will be determined by high resolution mass spectrometry and a suite of 1D/2D-nuclear magnetic resonance spectroscopy. In parallel, an untargeted metabolic profiling will be performed and coupled to dereplication using the Global Natural Products Social Molecular Networking (GNPS) tool. This will guide the isolation of molecules with new scaffolds.

The genome of this *Streptomyces* strain is currently being sequenced and data will be available during the internship. *In silico* analysis<sup>3</sup> will be performed to identify gene clusters involved in the biosynthesis of secondary metabolites including polyketides, non-ribosomal peptides, the hybrids thereof, ribosomal peptides and terpenes. Their number and diversity will be compared to those of closely-related and free-living *Streptomyces*, in an attempt to gain insight into the role and evolution of secondary metabolites in establishing symbiotic relationship.

To link the biosynthetic mechanism with the newly isolated molecules, putative genes will be inactivated in *Streptomyces* by homologous recombination. Biosynthetic pathways will be proposed

according to the prediction of protein functions. If time allows, biochemical studies of key enzymes *in vitro* will be attempted.

- Rôle du stagiaire dans le déroulement du projet (soyez le plus précis possible)

The master student will perform bacterial cultivation, compound isolation and structure elucidation, *in silico* analysis and gene inactivation experiments. He/she will participate actively in the elaboration of biosynthetic hypothesis.

References:

1. Kolter R and van Wezel GP. *Nat Microbiol* 2016, 1:15020.
2. Singh, R. P.; Reddy, C. R. *Front Microbiol* 2015, 6, 1488.
3. Blin K et al. *Nucleic Acids Res.* 2017, 45(W1):W36-W41.

**CONNAISSANCES OU COMPETENCES ACQUISES A L'ISSUE DU STAGE (300 caractères max.):**

L'étudiant(e) acquerra des connaissances et compétences en chimie des substances naturelles, en microbiologie, en modification génétique chez *Streptomyces* et en analyses des gènes de biosynthèse.

**NOM DU PROJET ATM OU DU PROJET FEDERATEUR DE DEPARTEMENT ASSOCIE (le cas échéant)**

Quelle est la valeur ajoutée du stage dans le cadre du projet ATM ou fédérateur proposé (15 lignes maximum)

Sans objet.

**AUTORISATIONS PARTICULIERES LIEES AU PROJET**

- Le projet implique-t-il l'utilisation d'animaux vivants à des fins scientifiques ? NON
- Le projet implique-t-il la mise en œuvre des règles d'accès aux ressources génétiques et partages des avantages (APA) ? NON
- Le projet nécessite-t-il des prélèvements sur des spécimens des collections ? NON

**UTILISATION DES PLATEAUX TECHNIQUES DU MUSEUM**

Plateau technique concerné	Quantité d'analyses prévues	Accord du responsable du plateau (signature)
Bio-organique (MS)	2x jour/nuit UPLC-MS/MSMS	
Bio-organique (RMN)	100 h 400 MHz	

**AUTRES FINANCEMENTS LIES AU PROJET OU AU STAGE LUI-MEME**

## **SELECTION DE 5 PUBLICATIONS RECENTES DU PORTEUR ET/OU DES PARTICIPANTS**

---

- Mevaere J, Goulard C, Schneider O, Sekurova ON, Ma H, Zirah S, Afonso C, Rebuffat S, Zotchev SB, Li Y. An orthogonal system for heterologous expression of actinobacterial lasso peptides in *Streptomyces* hosts. *Sci Rep*. 2018 May 29;8(1):8232.
- Li Y, Ducasse R, Zirah S, Blond A, Goulard C, Lescop E, Giraud C, Hartke A, Guittet E, Pernodet JL, Rebuffat S. Characterization of Sviceucin from *Streptomyces* Provides Insight into Enzyme Exchangeability and Disulfide Bond Formation in Lasso Peptides. *ACS Chem Biol*. 2015 Nov 20;10(11):2641-9.
- Vallet M, Vanbellingen QP, Fu T, Le Caer JP, Della-Negra S, Touboul D, Duncan KR, Nay B, Brunelle A, Prado S. An Integrative Approach to Decipher the Chemical Antagonism between the Competing Endophytes *Paraconiothyrium variable* and *Bacillus subtilis*. *J Nat Prod*. 2017 Nov 22;80(11):2863-2873.
- Amand S, Vallet M, Guedon L, Genta-Jouve G, Wien F, Mann S, Dupont J, Prado S, Nay B. A Reactive Eremophilane and Its Antibacterial 2(1H)-Naphthalenone Rearrangement Product, Witnesses of a Microbial Chemical Warfare. *Org Lett*. 2017 Aug 4;19(15):4038-4041.
- Zang Y, Genta-Jouve G, Escargueil AE, Larsen AK, Guedon L, Nay B, Prado S. Antimicrobial Oligophenalenone Dimers from the Soil Fungus *Talaromyces stipitatus*. *J Nat Prod*. 2016 Dec 23;79(12):2991-2996.

## **CHARGES D'ENCADREMENT DU MAITRE DE STAGE :**

---

**Nombre de thèses en cours au moment du stage : 1.5**

**Nombre de stagiaires de Master 1 et 2 pris en charge la même année : 1**

## **ENGAGEMENT DE L'UNITE EN MATIERE DE GRATIFICATION DE STAGE**

(à remplir par le directeur d'unité)

---

Nombre de stages de Master 2 (> 2 mois) accueillis dans l'unité : en 2017 ..... en 2018 ....

Nombre de stages de Master 2 (> 2 mois) gratifiés par l'unité : en 2017 ..... en 2018 ....

Dont : nombre de mois gratifiés sur ressources propres (hors ATM) en 2017 ..... en 2018 ....

Nombre de mois que l'unité s'engage à gratifier sur ses ressources propres en 2019 : 12 mois

---

Visa du Directeur de votre unité (NOM, Prénom, signature) :