

Proposition de stage

Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : Irstea, unité de Recherche Hydrosystèmes et Bioprocédés
Adresse : 1 rue Pierre-Gilles de Gennes, CS10030, 92761 ANTONY cedex
Responsable du Laboratoire / Entreprise : Nathalie Touze-Foltz
Responsable de l'encadrement : Ariane Bize
Téléphone : 0140966089
E-mail : ariane.bize@irstea.fr
Co-encadrant éventuel :

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

Analyse de l'infection virale par l'utilisation de la méthode du « Stable Isotope Probing » (SIP)

Les virus de microorganismes sont ubiquitaires et ils ont une grande influence sur les cycles biogéochimiques ainsi que sur la dynamique et l'évolution des écosystèmes microbiens. L'écologie virale est en plein essor, en particulier grâce au développement des approches méta-omiques. Toutefois, établir le lien entre des virus et leurs hôtes au sein d'écosystèmes complexes demeure un verrou fort dans ce domaine, les virus ne partageant pas systématiquement de gènes ou de séquences nucléotidiques avec leurs hôtes. Plusieurs approches expérimentales élégantes ont été proposées (e.g. [Brum & Sullivan, Reviews Microbiology, 2015](#)) et sont complémentaires dans la mesure où leur périmètre d'application et leurs avantages sont variés. L'objectif du stage est d'initier le développement d'une nouvelle méthode basée sur le « Stable Isotope Probing » (SIP) ([Neufeld et al, The ISME journal, 2007](#)), pour établir le lien entre des virus et leur hôte au sein d'écosystèmes complexes. L'avantage de cette méthode est qu'elle ne nécessite ni de cultiver les hôtes, ni de cibler de famille virale précise, et qu'elle met l'accent sur les aspects fonctionnels en se focalisant l'activité métabolique des hôtes.

L'objectif du stage proposé est d'établir la preuve de concept de cette approche sur un système modèle de cultures pures, avec *Escherichia coli* et le phage T4. La bactérie sera cultivée sur un milieu minimal contenant du glucose marqué au ^{13}C , un isotope rare et stable du carbone. Après incubation et infection par les phages, le SIP permettra de séparer les acides nucléiques enrichis et non enrichis en ^{13}C , et ainsi de vérifier que les génomes des phages, dont la réplication se produit à l'intérieur des cellules bactériennes, sont bien enrichis au ^{13}C . La sensibilité et la résolution de cette méthode seront ensuite évaluées grâce à des gammes de taux de glucose marqué utilisé comme substrat de croissance, et des gammes de quantités d'acides nucléiques utilisées pour le SIP. De plus, les taux d'enrichissement en ^{13}C de cellules bactériennes obtenues en l'absence de phages seront déterminés par spectrométrie isotopique (IRMS, « isotope-ratio mass spectrometry ») afin d'étudier le lien et la cohérence entre le taux de marquage des cellules, le taux de marquage de l'ADN cellulaire et le taux de marquage de l'ADN viral, pour les différents points de la gamme d'enrichissement.

Ces évaluations sont essentielles en vue d'applications au sein de communautés complexes car les enrichissements y sont souvent partiels : il est nécessaire de bien appréhender le domaine de validité de la méthode.

En parallèle de ce volet expérimental, qui sera prioritaire, il sera possible de réaliser pendant le stage des analyses de métaviromes d'écosystèmes anaérobies déjà publiés. L'objectif sera d'identifier des contigs susceptibles d'être issus de virus d'archées méthanogènes et d'en réaliser une analyse de génomique comparative. En effet, très peu de virus d'archées méthanogènes ont été identifiés jusqu'à présent ([Pransighvili et al, *Nature Reviews Microbiology*, 2017](#)) et cette approche pourrait permettre d'identifier de nouveaux virus d'archées putatifs et de mieux connaître leur diversité et leur histoire évolutive.