

Fiche descriptive du stage

Titre : Caractérisation fonctionnelle d'une diguanylate cyclase impliquée dans la formation de biofilms à l'interface alcane-eau par *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* SP17

Marinobacter hydrocarbonoclasticus SP17 est une bactérie marine, capable d'utiliser les alcanes à longue chaîne comme source de carbone et d'énergie. La nature hydrophobe et peu réactive de ces composés exige, de la part de la bactérie, la mise en place de systèmes spécifiques pour leur capture, leur transport et leur métabolisme. L'interaction entre l'alcane et la bactérie s'établit à travers la formation d'un biofilm à l'interface alcane-eau (1)(2)(3).

Une analyse mutationnelle par insertion aléatoire du *miniTn5* chez la souche *M. hydrocarbonoclasticus* SP17 a été réalisée lors d'une étude précédente. Vingt-quatre mutants déficients dans la formation de biofilm sur paraffine ont été obtenus sur 4565 clones testés. Un de ces mutants possède une insertion du *miniTn5* dans le gène *MARHY0839* dont le produit contient un domaine présentant une forte similarité séquence avec les domaines GGDEF qui sont caractéristiques des diguanylate cyclases. Ces enzymes synthétisent le messenger intracellulaire di-GMP cyclique qui est impliqué dans la formation de biofilm chez de nombreuses espèces bactériennes.

Les objectifs de ce stage sont de démontrer l'activité di-guanylate cyclase de la protéine codée par *MARH0839* en l'exprimant dans une souche de *Pseudomonas aeruginosa* qui porte un système rapporteur de l'activité di-guanylate cyclase et d'étudier son rôle dans la formation de biofilm chez *M. hydrocarbonoclasticus* SP17.

1. Ennouri H, d'Abzac P, Hakil F, Branchu P, Naïtali M, Lomenech A-M, Oueslati R, Desbrières J, Sivadon P, Grimaud R. 2017. The extracellular matrix of the oleolytic biofilms of *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* comprises cytoplasmic proteins and T2SS effectors that promote growth on hydrocarbons and lipids. *Environ Microbiol* 19:159–173.
2. Mounier J, Hakil F, Branchu P, Naïtali M, Goulas P, Sivadon P, Grimaud R. 2018. *AupA* and *AupB* Are Outer and Inner Membrane Proteins Involved in Alkane Uptake in *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* SP17. *mBio* 9:e00520-18.
3. Sivadon P, Grimaud R. 2017. Assimilation of Hydrocarbons and Lipids by Means of Biofilm Formation, p. 1–12. *In* Krell, T (ed.), *Cellular Ecophysiology of Microbe*. Springer International Publishing, Cham.