

Analyse fonctionnelle du système de sécrétion de Type VII et des protéines LXG de la souche bioprotectrice *Lactococcus piscium* CNCM I-4031

La bio-préservation est une méthode alternative de conservation des aliments de plus en plus utilisée dans les industries alimentaires. Le principe consiste à ajouter dans la denrée alimentaire un ou des microorganismes protecteurs, capables d'inhiber le développement de flores indésirables (pathogènes ou d'altération) ¹. Les bactéries utilisées comme agent de bio-conservation sont majoritairement des bactéries lactiques du fait de leur innocuité et leur capacité à produire des molécules antimicrobiennes vis-à-vis des microorganismes non souhaités.

Lactococcus piscium CNCM I-4031 est une bactérie lactique psychrotrophe, isolée dans le cadre des travaux de recherche menés précédemment à Secalim et à EM3B (Ifremer). Cette souche modèle présente un fort intérêt pour la préservation des produits de la mer du fait qu'elle empêche la croissance de la bactérie altérante *Brochothrix thermosphacta* et du pathogène *Listeria monocytogenes* ^{2,3,4}. Cette activité antagoniste est considérée comme atypique car elle fait intervenir un système d'inhibition dépendant du contact cellulaire⁵.

Le décryptage de ce système d'inhibition est un enjeu scientifique important pour mieux comprendre les interactions microbiennes dans les écosystèmes microbiens complexes et leurs conséquences sur la sécurité et la salubrité d'une denrée alimentaire. Récemment, l'analyse *in silico* de 8 génomes de l'espèce *L. piscium* a permis de mettre en évidence l'existence de différents opérons codants potentiellement pour des toxines antimicrobiennes polymorphes appartenant à la famille des protéines LXG. La sécrétion de ces protéines s'effectue par l'intermédiaire du système de sécrétion Type 7 ⁶. Ces toxines antimicrobiennes jouent un rôle important dans la compétition bactérienne et l'inhibition par contact ^{7,8}.

Nous proposons à un(e) étudiant(e) motivé(e) de participer à la **caractérisation du système de sécrétion de Type VII et des protéines LXG de la souche bioprotectrice *Lactococcus piscium* CNCM I-4031**. Votre travail consistera à :

- Analyser l'expression des gènes codant pour le T7SS et les protéines LXG par la méthode de RT-qPCR.
- Inactiver les gènes candidats par mutagenèse dirigée (gènes codant pour les protéines LXG et la protéine EssC du système de sécrétion type 7).
- Caractériser les mutants générés.

Principales techniques à mettre en œuvre : Microbiologie classique, Biologie moléculaire (mutagenèse dirigée), génomique fonctionnelle (RT-qPCR).

Encadrant : Raouf Tareb & Marie-France Pilet

Dossier de candidature : CV et lettre de motivation

Contact : raouf.tareb@oniris-nates.fr

Référence bibliographique:

1. Zagorec, M., Champomier-Verges, M.-C., Chaillou, S., Leroy, S. & Christeians, S. La connaissance approfondie des communautés bactériennes des aliments et ses conséquences pour l'utilisation de la biopréservation. *Innov. Agron.* (44), 15-24. (2015).
2. Matamoros, S. et al. Psychrotrophic lactic acid bacteria used to improve the safety and quality of vacuum-packaged cooked and peeled tropical shrimp and cold-smoked salmon. *J. Food Prot.* 72, 365–74 (2009).
3. Fall, P. A., Leroi, F., Cardinal, M., Chevalier, F. & Pilet, M. F. Inhibition of *Brochothrix thermosphacta* and sensory improvement of tropical peeled cooked shrimp by *Lactococcus piscium* CNCM I-4031. *Lett. Appl. Microbiol.* 50, 357–361 (2010).
4. Fall, P. A., Leroi, F., Chevalier, F., Guérin, C. & Pilet, M.-F. Protective Effect of a Non-Bacteriocinogenic *Lactococcus piscium* CNCM I-4031 Strain Against *Listeria monocytogenes* in Sterilized Tropical Cooked Peeled Shrimp. *J. Aquat. Food Prod. Technol.* 19, 84–92 (2010).
5. Saraoui, T. et al. Inhibition mechanism of *Listeria monocytogenes* by a bioprotective bacteria *Lactococcus piscium* CNCM I-4031. *Food Microbiol.* 53, 70–78 (2016).
6. Tareb, T., Rezé, S. & Pilet, M. F. The type VII secretion system and LXG proteins of *Lactococcus piscium* suggest a role in interbacterial antagonism requiring cell-to-cell contact. 16ème Congrès National de la SFM (Société Française de Microbiologie). 9-11 octobre 2017, 22 au 24 septembre 2021 Cité des Congrès de Nantes, France (Poster).
7. García-Bayona, L. & Comstock LE. Bacterial antagonism in host-associated microbial communities. *Science. American Association for the Advancement of Science*; Vol. 361, (2018).
8. Klein, T.A., Ahmad, S. & Whitney, J.C. Contact-Dependent Interbacterial Antagonism Mediated by Protein Secretion Machines. *Trends in Microbiology.* Vol. 28, 387–400 (2020).