LUE-ÉVOLUTION EXPÉRIMENTALE DE GÈNES DE BIOSYNTHÈSE CHEZ STREPTOMYCES

LUE-EXPERIMENTAL EVOLUTION OF BIOSYNTHETIC GENE CLUSTERS IN STREPTOMYCES

Etablissement **Université de Lorraine**

École doctorale **SIReNa - SCIENCE ET INGENIERIE DES RESSOURCES NATURELLES**

Spécialité **Ecotoxicologie, Biodiversité, Ecosystèmes**

Unité de recherche **DynAMic - Dynamique des Génomes et Adaptation Microbiennes**

Encadrement de la thèse **Cyril BONTEMPS (detailResp.pl?resp=23523)**
Co-Encadrant **Pierre LEBLOND (detailResp.pl?resp=18631)**
Début de la thèse le **1 octobre 2022**

Date limite de candidature (à 23h59) **25 juin 2022**

Mots clés - Keywords

Streptomyces, Evolution, Microbiologie, Métabolomique, Génomique

Streptomyces, Evolution, Microbiology, Metabolomics, Genomics

Description de la problématique de recherche - Project description

Les Streptomyces sont des bactéries filamenteuses vivant dans le sol. Elles font partie des 'chimistes' les plus compétents de la nature car elles produisent une multitude et une diversité étonnantes de métabolites spécialisés [1]. Parmi eux, de nombreuses enzymes, pigments, molécules antiprolifératives, antitumorales ou antioxydantes présentent un intérêt particulier pour l'industrie ou la médecine. Par exemple, près d'un tiers de tous les antibiotiques connus ont les Streptomyces pour origine. Au cours de la dernière décennie, l'accès aux séquences du génome des Streptomyces a montré que cette profusion et cette diversité de molécules sont principalement basées sur la présence de nombreux clusters de gènes de biosynthèse (BGC) (environ 20-30 par souche). Ces BGC sont divers, complexes et parfois composés de plus de 40 gènes [2]. Ils sont également considérés comme l'une des unités génétiques les plus diverses et évoluant le plus rapidement dans le vivant [2]. L'un des moteurs de cette évolution est la capacité de différents BGC à recombiner entre eux pour créer de nouvelles voies, notamment après des événements de transfert horizontal de gènes (HGT). Dans ce contexte, les Streptomyces sont considérés comme des bactéries hautement recombinogènes [3] (c'est-à-dire capables de transférer et de recombiner l'ADN entre différentes souches). Ceci est en partie dû à leur mécanisme conjugatif efficace d'échange de gènes qui peut transférer de grandes portions d'ADN compatibles avec la taille des BGC.
Dans ce projet, nous chercherons à imiter les processus naturels à l'origine de la création de nouvelles molécules. Pour ce faire, nous proposons i) de mimer les phénomènes évolutifs conduisant à la diversité des métabolites en mettant en place des expériences d'évolution expérimentale et ii) d'analyser les souches évoluées par une combinaison de techniques 'omiques' (génomique et métabolomique) pour mettre en évidence de nouvelles biomolécules potentielles.
Brièvement, l'évolution expérimentale consistera en des cycles de repiquage sur boite hebdomadaires pendant plusieurs semaines/mois de mélanges de souches de complexités variables. Cette partie du projet sera réalisée dans le laboratoire DynAMic et nous profiterons d'une population disponible au laboratoire de Streptomyces séquencés pour lesquels le transfert de gènes et la variabilité des BGC ont déjà été démontrés [4] . Les souches évoluées à différents points de temps de l'expérience seront criblées avec différents tests (par exemple, production d'antibiotiques, tests antioxydants...) et le génome des souches sélectionnées sera séquencé pour évaluer les changements génomiques qui se sont opérés au cours de l'expérience d'évolution. Les profils métabolomiques de souches évoluées (sélectionnées suite aux tests génomiques et antiprolifératifs) seront ensuite étudiés à l'échelle moléculaire dans le laboratoire du LCP-A2MC. Des méthodes basées sur la spectrométrie de masse (MS) seront utilisées telles que la chromatographie en phase gazeuse (GC) ou liquide (LC), la MS, et en particulier la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) qui permet de mettre en évidence une variété de métabolites ciblés ou non comme biomarqueurs dans de nombreux domaines d'applications [5].
Grâce à ces approches complémentaires, le doctorant acquerra une solide expérience en microbiologie et dans différentes sciences omiques. Il/elle renforcera les collaborations existantes entre les deux laboratoires. En pratique, la plupart des travaux seront effectués au laboratoire Dynamic (Vandoeuvre-Lès-Nancy, France). Les laboratoires Dynamic et LCP-A2MC (Metz, France) sont distants d'environ 50 km. Les analyses métabolomiques qui seront effectuées au laboratoire LCP-A2MC ne nécessiteront donc qu'un déplacement ponctuel.

http://dynamic.univ-lorraine.fr/
http://lcp-a2mc.univ-lorraine.fr/

1. Barka EA, Vatsa P, Sanchez L, Gaveau-Vaillant N, Jacquard C, Meier-Kolthoff JP, et al. Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. Microbiol Mol Biol Rev 2016; 80: 1–43.
2. Fischbach MA, Walsh CT, Clardy J. The evolution of gene collectives: How natural selection drives chemical innovation. Proc Natl Acad Sci U S A 2008; 105: 4601–4608.
3. Doroghazi JR, Buckley DH. Widespread homologous recombination within and between Streptomyces species. ISME J 2010; 4: 1136–1143.
4. Tidjani A-R, Lorenzi J-N, Toussaint M, van Dijk E, Naquin D, Lespinet O, et al. Massive Gene Flux Drives Genome Diversity between Sympatric Streptomyces Conspecifics. mBio 2019; 10.
5. Carre V, Leroy P, Chaimbault P. Diagnosis of Biological Activities by Mass Spectrometry. Proceedings 2019; 11: 36.

Streptomyces are filamentous soil dwelling bacteria that are among Nature's most competent "chemists" as they produce stunning multitude and diversity of bioactive specialized metabolites [1]. Among them many enzymes, pigments, antiproliferative, antitumoral or antioxidant molecules are of special interest for the industry or the medicine. For instance, almost one third of all known antibiotics have a Streptomyces origin. In the past decade, access to Streptomyces genome sequences has shown that this profusion and diversity of molecules is mainly based on the presence of numerous biosynthetic gene clusters (BGCs) (ca. 20-30 per strain). These BGCs are diverse, complex and sometimes composed of >40 genes [2]. They are also considered as among most diverse and rapidly evolving genetic units [2]. One driver of this evolution is the ability of different BGCs to recombine altogether to create new pathways, notably after the Horizontal Gene Transfers (HGT) events. Moreover, Streptomyces are considered as highly recombinogenic bacteria [3] (i.e. able to transfer and recombine DNA between different strains). This is in part due to their efficient conjugative mechanism of gene exchange that can transfer large DNA stretches compatible with the size of BGCs.
Thus, in this project, we will aim to mimic the natural processes at the origin of the creation of new molecules. To do so, we propose i) to mimic evolutionary phenomena leading to metabolites diversity by setting up experimental evolution experiments and ii) to analyze evolved strains by a combination of "omic" technics (genomics and metabolomics) to unravel potential new biomolecules.
Briefly, the experimental evolution will consist by one-week transplanting cycles on plate of mixes of strains of various complexities for several weeks/months. This part of the project will be performed in DynAMic Lab and we will take advantage of our former population of sequenced Streptomyces for which gene transfer and BGC variability were already assessed [4]. Evolved strains at some time point of the experiment will be screen with various tests (e.g. antibiotic production, antioxidative tests…) and the genome of selected strains will be sequenced to assess genomic changes that would have occurred during the evolution experiment. The metabolomic profiles of evolved strains (selected following the genomics and antiproliferative tests) will be eventually studied at the molecular scale in the LCP-A2MC lab. Mass Spectrometry (MS) based technics methods will be used such as gas (GC) or liquid chromatography (LC), MS, and particularly tandem mass spectrometry (MS/MS) that highlights variety of targeted and even non-targeted metabolites as biomarkers in many fields of applications [5].
Through these complementary approaches, the PhD student will gain a strong experience in microbiology and different omics science. She/he will strengthen existing collaborations between the two labs. Practically, most of the work will be performed at the Dynamic Lab (Vandoeuvre-Lès-Nancy, France). The Dynamic and the LCP-A2MC (Metz, France) labs are ca. 50 km far. Thus, the metabolomics analyses that will be done at the LCP-A2MC lab will only require one-off commuting.
http://dynamic.univ-lorraine.fr/
http://lcp-a2mc.univ-lorraine.fr/

1. Barka EA, Vatsa P, Sanchez L, Gaveau-Vaillant N, Jacquard C, Meier-Kolthoff JP, et al. Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. Microbiol Mol Biol Rev 2016; 80: 1–43.
2. Fischbach MA, Walsh CT, Clardy J. The evolution of gene collectives: How natural selection drives chemical innovation. Proc Natl Acad Sci U S A 2008; 105: 4601–4608.
3. Doroghazi JR, Buckley DH. Widespread homologous recombination within and between Streptomyces species. ISME J 2010; 4: 1136–1143.
4. Tidjani A-R, Lorenzi J-N, Toussaint M, van Dijk E, Naquin D, Lespinet O, et al. Massive Gene Flux Drives Genome Diversity between Sympatric Streptomyces Conspecifics. mBio 2019; 10.
5. Carre V, Leroy P, Chaimbault P. Diagnosis of Biological Activities by Mass Spectrometry. Proceedings 2019; 11: 36.

Thématique / Contexte

Cette thèse financée par LUE (Lorraine Université d'excellence) (https://www.univ-lorraine.fr/lue/) sera co-dirigée entre les laboratoires Dynamic (Université de Lorraine, Vandœuvre-Lès-Nancy) (http://dynamic.univ-lorraine.fr/) et le laboratoire LCP-A2MC (Université de Lorraine, Metz) (http://lcp-a2mc.univ-lorraine.fr/) qui ont déjà collaboré récemment. Le laboratoire Dynamic (Cyril Bontemps et Pierre

Leblond) est spécialiste de l'étude des Streptomyces et de leur évolution par des approches de microbiologie, de génétique et de génomique. Le laboratoire LCP-A2MC (Patrick Chaimbault) est spécialisé en biochimie et l'étude métabolomique notamment par des approches de spectrométrie de masse. La thèse se déroulera principalement au laboratoire Dynamic, mais les expériences et analyses métabolomiques seront réalisées au LCP-A2MC. Les deux laboratoires étant situés à une cinquantaine de km cela ne nécessitera que des allers-retours épisodiques entre les deux laboratoires.

http://dynamic.univ-lorraine.fr/
http://lcp-a2mc.univ-lorraine.fr/

Références bibliographiques

Nicault, Matthieu, Ali Zaiter, Stéphane Dumarcay, Patrick Chaimbault, Eric Gelhaye, Pierre Leblond, et Cyril Bontemps. 2021. « Elicitation of Antimicrobial Active Compounds by Streptomyces-Fungus Co-Cultures ». Microorganisms 9 (1). https://doi.org/10.3390/microorganisms9010178.
Tidjani, Abdoul-Razak, Jean-Noël Lorenzi, Maxime Toussaint, Erwin van Dijk, Delphine Naquin, Olivier Lespinet, Cyril Bontemps, et Pierre Leblond. 2019. « Massive Gene Flux Drives Genome Diversity between Sympatric Streptomyces Conspecifics ». MBio 10 (5). https://doi.org/10.1128/mBio.01533-19.
Carre, Vincent, Pierre Leroy, et Patrick Chaimbault. 2019. « Diagnosis of Biological Activities by Mass Spectrometry ». Proceedings 11 (avril): 36. https://doi.org/10.3390/proceedings2019011036.
Nicault, Matthieu, Abdoul-Razak Tidjani, Anthony Gauthier, Stéphane Dumarcay, Eric Gelhaye, Cyril Bontemps, et Pierre Leblond. 2020. « Mining the Biosynthetic Potential for Specialized Metabolism of a Streptomyces Soil Community ». Antibiotics (Basel, Switzerland) 9 (5). https://doi.org/10.3390/antibiotics9050271.
Paris, Cédric, Katalin Selmeczi, Bruno Ebel, Loic Stefan, Gizella Csire, Céline Cakir-Kiefer, Stéphane Desobry, Laetitia Canabady-Rochelle, et Patrick Chaimbault. 2021. « Metabolomics Approach Based on LC-HRMS for the Fast Screening of Iron(II)-Chelating Peptides in Protein Hydrolysates ». Analytical and Bioanalytical Chemistry 413 (2): 315-29. https://doi.org/10.1007/s00216-020-03037-1.

Précisions sur l'encadrement - Details on the thesis supervision

Le Professeur Patrick Chaimbault LCP-A2MC (Université de Lorraine-Metz) sera également co-encadrant.
Cyril Bontemps soutiendra son HDR le 09 juin 2022;

Conditions scientifiques matérielles et financières du projet de recherche

Le doctorant bénéficiera d'une bourse de thèse LUE pendant 3 ans. Du fonctionnement est également alloué par le financeur du projet pour réaliser les expériences.

Objectifs de valorisation des travaux de recherche du doctorant : diffusion, publication et confidentialité, droit à la propriété intellectuelle,...

Cette thèse est basée sur de la recherche fondamentale qui sera valorisée par des publications scientifiques dans des revues à comité de relecture et également par des communications dans des congrès. Si une ouverture vers de la valorisation est possible en cas de découverte d'activités biologiques intéressantes, un dépôt de brevet sera effectué pour protéger et valoriser ces résultats.

Profil et compétences recherchées - Profile and skills required

Le/la candidate devra avoir un master de microbiologie ou de biochimie. Le sujet portant à la fois sur de la microbiologie, de la génomique et de la métabolomique, le/la candidate devra avoir de l'autonomie et de bonnes facultés d'adaptation pour monter en compétence sur les aspects les moins maitrisés en début de thèse
The candidate should have a master degree in microbiology or biochemistry. As the subject involves microbiology, genomics and metabolomics, the candidate must be autonomous and adaptable in order to increase his/her competence in the aspects that are less well known at the beginning of the thesis.

Dernière mise à jour le 6 mai 2022