

- **Date de la demande** (04/01/16) :

1- Identification du projet (en langue française)

- **Acronyme du projet** (8 caractères maximum) : **MOBILOME**

- **Intitulé du projet** (en langue française) : **Vésicules et virus produits par des micro-organismes marins thermophiles : physiologie et détoxication.**

2- Domaine d'innovation stratégique (DIS) du projet

- **Cocher le DIS prioritaire** au sein duquel le projet de thèse s'intègre. Vous pouvez mentionner un DIS secondaire (choix à indiquer et argumenter au point 5-Présentation du projet, paragraphe 6). Si aucun DIS ne correspond, cocher « Projet Blanc ».

DIS 1 : Innovations sociales et citoyennes pour une société ouverte et créative

DIS 2 : Chaîne alimentaire durable pour des aliments de qualité

DIS 3 : Activités maritimes pour une croissance bleue

DIS 4 : Technologies pour la société numérique

DIS 5 : Santé et bien-être pour une meilleure qualité de vie

DIS 6 : Technologies de pointe pour les applications industrielles

DIS 7 : Observation et ingénieries écologique et énergétique au service de l'environnement

« Projet Blanc »

- **Préciser le sous-domaine correspondant :**

3B- Valorisation de la biomasse marine et biotechnologies

3- Présentation de l'établissement porteur (bénéficiaire de l'aide régionale)

- **Établissement porteur du projet** (implantation obligatoire sur le territoire régional) : **UBO**

NB : C'est-à-dire l'établissement bénéficiaire de l'aide régionale. Un seul établissement peut être indiqué.

- **Ecole Doctorale** : Ecole doctorale des Sciences de la Mer

4- Identification du/de la responsable du projet (futur-e directeur-trice de thèse)

- **Nom et prénom** : Godfroy Anne

- **Genre du/de la responsable du projet** (F/H) : F

- **e-mail** : Anne.Godfroy@ifremer.fr

- **Téléphone** : 02 98 22 45 29

- **Nom du laboratoire** : LM2E

- **Code du laboratoire (U/UMR/USR/EA/JE/...)** : UMR 6197

- **Nom de l'équipe de recherche** :

- **Nombre HDR dans le laboratoire** : 7

- **Nombre de thèses en cours** : 12

- **Nombre de post-docs en cours** : 0

- **Publications récentes du directeur-trice de thèse** (nb total et 5 références max au cours des 5 dernières années) :

Au cours des 5 dernières années, nombre de publications pour A. Godfroy : 12, pour C. Geslin : 9.

Callac N, Rouxel O, Lesongeur F, Liorzou C, Bollinger C, Pignet P, Cheron S, Fouquet Y, Rommevaux-Jestin C, **Godfroy A** (2015) Biogeochemical insights into microbe-mineral-fluid interactions in hydrothermal chimneys using enrichment culture. *Extremophiles* 19: 597-617

Lossouarn J, Nesbø CL, Mercier C, Zhaxybayeva O, Johnson MS, Charchuck R, Farasin J, Bienvenu N, Baudoux AC, Michoud G, Jebbar M, and **Geslin C**. (2015) "Ménage à trois": a selfish genetic element uses a virus to propagate within Thermotogales. *Environ Microbiol.* 17: 3278-3288

Lossouarn J, Dupont S, Gorlas A, Mercier C, Bienvenu N, Marguet E, Forterre P, **Geslin C**. (2015) An abyssal mobilome: viruses, plasmids and vesicles from deep-sea hydrothermal vents. *Res Microbiol.* 166: 742-752

Gorlas A, Marguet E, Gill S, **Geslin C**, Guigner JM, Guyot F, Forterre P. (2015) Sulfur vesicles from Thermococcales: A possible role in sulfur detoxifying mechanisms. *Biochimie.* 118: 356-364

Vignerot A, Cruaud P, Pignet P, Caprais J-C, Gayet N, Cambon-Bonavita M-A, **Godfroy A**, Toffin L (2014a) Bacterial communities and syntrophic associations involved in anaerobic oxidation of methane process of the Sonora Margin cold seeps, Guaymas Basin. *Environmental Microbiology* 16: 2777-2790

- **Co-directeur-trice de thèse:** Claire Geslin

- **Laboratoire de recherche co-encadrant** (nom + code U/UMR/USR/EA/JE/...) : LM2E, UMR 6197

5- Présentation du projet (en langue française, 2 à 3 pages)

- **Résumé du projet (15 lignes) :**

Un nombre limité d'éléments génétiques mobiles (EGM) a été isolé et caractérisé des sources hydrothermales océaniques profondes. Ce mobilome (Virus, plasmides, vésicules...) est une force motrice pour la diversité, l'évolution et l'adaptation des communautés microbiennes notamment en milieu extrême. Les objectifs du travail de thèse seront de poursuivre la caractérisation de nouveaux virus associés à des bactéries et archées thermophiles marines et d'y intégrer l'étude des vésicules membranaires (VMs). La production de VMs est un mécanisme universel de communication cellulaire connu chez les eucaryotes et les bactéries (rôle dans le transfert de toxines, d'agents du quorum sensing, de facteurs de pathogénicité, d'ARN et d'ADN) mais très peu documenté chez les archées et les bactéries thermophiles. Ainsi, des travaux sur les interactions/régulations entre VMs et virus seront menés. De plus, le rôle potentiel des VMs dans la détoxification des métaux lourds sera aussi recherché. En effet les systèmes océaniques hydrothermaux sont caractérisés par la présence de métaux lourds (cadmium, cuivre, zinc...). Pour mener à bien cette étude nous disposons déjà d'une collection de VMs et virus isolés de micro-organismes thermophiles auxquels viendront s'ajouter de nouveaux EGM mis en évidence lors de ces futurs travaux. Ce projet devrait ainsi contribuer à mettre en évidence des ressources microbiennes originales.

- **Présentation détaillée du projet :**

1-Contexte scientifique et socio-économique du projet :

La **virospère** représenterait le plus important réservoir biologique, à la fois en termes d'abondance mais aussi de biodiversité. Les virus infectent les trois domaines du vivant et sont aussi présents dans les environnements les plus extrêmes y compris les sources hydrothermales océaniques profondes. Notre connaissance de la diversité virale associée aux microorganismes colonisant ces sources hydrothermales est encore limitée. Seules quelques études sur l'abondance virale et l'impact sur la mortalité microbienne sont disponibles (Williamson *et al.*, 2008). Un nombre limité de virus ont été isolés et caractérisés de ces environnements extrêmes (8 couples hôtes/virus) (Lossouarn *et al.*, 2015a).

Le LM2E est le seul laboratoire français spécialisé dans l'étude des virus isolés de sources hydrothermales océaniques profondes. Dans le cadre de ces études, ont été isolés, PAV1 et TPV1, les deux seuls virus décrits chez des archées marines anaérobies et hyperthermophiles (ordre des *Thermococcales*) (Geslin *et al.*, 2003 et 2007 ; Gorlas *et al.*, 2012). Nous avons récemment élargi notre champ d'investigation à l'étude d'éléments génétiques mobiles (virus et vésicules) associés aux *Methanococcales*, archées autotrophes hyperthermophiles et

productrices de méthane. Ces méthanogènes représentent en effet un modèle d'étude intéressant en tant que producteurs primaires colonisant ces écosystèmes extrêmes, et pour lesquels aucun virus n'avait été décrit. Un virus vient d'être isolé du genre *Methanocaldococcus* et sa caractérisation est en passe d'être achevée (Post-doctorat S. Dupont).

Dans le but d'approfondir notre connaissance de la diversité virale associée aux microorganismes thermophiles hydrothermaux, nous avons étendu nos recherches au domaine bactérien représenté par l'ordre des *Thermotogales*. Ces bactéries marines, thermophiles et anaérobies partagent la même niche écologique que les *Thermococcales*. Nous avons ainsi isolé et caractérisé le premier bactériophage, MPV1, infectant une bactérie de cet ordre. (Lossouarn *et al.*, 2015b). Deux autres siphovirus appartenant à cet ordre bactérien sont en fin de caractérisation (Thèse C. Mercier). De plus, dans le cadre d'une **collaboration santé/mer avec le LUBEM** et plus précisément avec l'équipe du Pr C. Payan. MPV1 est actuellement utilisé comme contrôle interne universel (CIU) pour la PCR et autres méthodes moléculaires au CHU de Brest. En effet, MPV1 a été isolé dans les grands fonds marins et n'est pas susceptible d'être retrouvé à la surface de la terre en tant que pathogène humain. Il s'avère ainsi être un excellent candidat comme contrôle universel pour toutes les PCR recherchant des cibles moléculaires d'intérêt dans des échantillons de prélèvements humains. En effet, en cas d'inhibition et en l'absence d'un contrôle interne amplifié en même temps que la cible moléculaire recherchée, il n'est pas possible de distinguer un échantillon négatif d'un échantillon positif inhibé (faux négatif). Dans le cadre de ce travail une **déclaration d'invention a été déposée à SAAT Ouest Valorisation**.

Dans ce contexte, **les objectifs du travail de thèse seront de poursuivre la caractérisation de nouveaux virus associés à des bactéries et archées thermophiles marines et d'y intégrer l'étude des vésicules membranaires (VMs)** produites par ces mêmes micro-organismes. Par ce projet nous voulons augmenter nos connaissances sur la diversité moléculaire des éléments génétiques mobiles (Virus, vésicules, plasmides), comprendre leur impact sur les communautés microbiennes mais aussi leur impact sur les écosystèmes chauds (les sources hydrothermales océaniques) pour lesquels trop peu de données sont disponibles.

Ce projet devrait contribuer à mettre en évidence des ressources microbiennes originales des milieux océaniques extrêmes. Plus précisément, il contribuera à enrichir les collections publiques de nouveaux gènes d'intérêt fondamental ou appliqué et issus de la biodiversité de ces éléments génétiques mobiles. Ces derniers représentent donc un immense réservoir de nouvelles structures protéiques et de nouvelles fonctions biologiques dont l'exploration doit être réalisée notamment à des fins biotechnologiques.

2-Hypothèse et questions posées, identification des points de blocages scientifiques que le travail de thèse se propose de lever :

La nouveauté et l'originalité de ce projet repose notamment sur l'étude des vésicules membranaires produites par ces microorganismes marins thermophiles. La production de VMs est un mécanisme universel de communication cellulaire connu chez les eucaryotes et les bactéries (rôle dans le transfert de toxines, d'agents du quorum sensing, de facteurs de pathogénicité, d'ARN et d'ADN) mais très peu documenté chez les archées et les bactéries thermophiles.

Chez les eucaryotes et les bactéries, plusieurs études ont montré que les VMs peuvent jouer un rôle de détoxification. Ce procédé a notamment été observé chez les organismes marins eucaryotes comme les mollusques et crustacés qui accumulent du cadmium (Sterling *et al.*, 2007). Le stockage et le relargage du cadmium sont réalisés par des VMs dans un but d'une détoxification.

D'autre part, de nombreuses bactéries produisent des vésicules contenant du soufre. Le soufre est un élément important pour la vie microbienne des sources hydrothermales et est métabolisé par une grande variété de micro-organismes. Nos travaux de recherche ont d'ailleurs permis de mettre en évidence la présence de vésicules membranaires contenant du soufre chez une archée hyperthermophile, appartenant à l'ordre des *Thermococcales*. Cette archée héberge un virus, deux plasmides et produit des VMs. La production de ces VMs serait impliquée dans le stockage du soufre et dans son transport à l'extérieur de la cellule comme moyen de détoxification (Gorlas *et al.*, 2015). Nous avons également observé que la production de virus interagit sur la production de vésicules en la diminuant.

Dans ce contexte, des études sur les interactions/régulations entre VMs et virus seront menées. De plus, le rôle potentiel des VMs dans la détoxification des métaux lourds sera aussi recherché pour la première fois en système hydrothermal. En effet les systèmes océaniques hydrothermaux sont notamment caractérisés par la présence de métaux lourds (cadmium, cuivre, zinc...). Pour mener à bien cette étude nous disposons déjà d'une collection de VMs et virus isolés de micro-organismes thermophiles auxquels viendront s'ajouter de nouveaux éléments génétiques mobiles (EGM) mis en évidence lors de ces futurs travaux.

Ainsi en étudiant ces différents groupes d'Archaea et de Bacteria (hyper)thermophiles, et leurs EGM, nous voulons montrer que ces derniers (vésicules, virus, plasmides) ont un rôle probablement majeur dans le cycle de vie des

microorganismes thermophiles marins. L'étude de leurs interactions avec leurs hôtes cellulaires est indispensable afin de comprendre leurs impacts (évolution, adaptation, détoxification) mais aussi afin de définir leurs potentiels biotechnologiques (transfert des toxines, de métaux lourds, d'acides nucléiques...).

À notre connaissance, il n'y a aucun projet équivalent en cours au niveau national ou international (que ce soit pour le domaine des bactéries, des archées ou des eucaryotes en milieu hydrothermal). Les études sur les interactions entre vésicules membranaires et virus chez les micro-organismes sont à leurs débuts.

3-Approche méthodologique et technique envisagée :

Le LM2E a accès à différentes plateformes biotechnologiques et bénéficie de leurs services et de leurs expertises. Brièvement, au niveau méthodologique, les micro-organismes seront mis en culture à haute température et en condition anaérobie (UBOCC (souchothèque de Bretagne)). La présence de vésicules et de virus sera recherchée et leurs interactions étudiées par des observations en microscopie électronique à transmission (Plate-forme d'imagerie et de mesure en microscopie-pimm). Les acides nucléiques présents dans ces éléments génétiques mobiles seront séquencés et annotés. Des recherches innovantes par spectrométrie de masse (ICP-MS – PSO (Pôle de spectrométrie océane)/Ifremer) en collaboration avec E. Ponzevera seront menées afin d'analyser le contenu des vésicules en métaux lourds.

4-Profil du candidat (compétences scientifiques et techniques requises) :

L'étudiant(e) devra avoir suivi lors de son cursus universitaire des unités d'enseignement en microbiologie (physiologie, virologie, génétique microbienne) et avoir de bonnes bases en biologie moléculaire.

5-Positionnement et environnement scientifique dans le contexte régional, et le cas échéant, national et international :

Le LM2E est le seul laboratoire français spécialisé dans l'étude des virus isolés de sources hydrothermales océaniques profondes. Cette thèse s'inscrit à la suite d'un projet ANR, Programme Blanc édition 2012: Projet Thermovesicles, financé sur 4 ans. Nous voulons poursuivre ce travail pour l'inscrire dans la continuité et toujours dans un contexte partenarial national impliquant le LM2E et **le laboratoire du gène chez les extrémophiles dirigé par le Pr Patrick Forterre, Institut Pasteur, Paris**. Ces nouvelles études seront notamment financées par le projet **ERC (2013-2017) EVOMOBIL porté par P. Forterre**: Co-evolution of viruses, plasmids and cells in archaea: pattern and process, dans lequel le LM2E est partenaire et fortement impliqué.

Au LM2E, laboratoire porteur de ce projet de thèse, le groupe de Claire Geslin, collabore également étroitement **avec le groupe mené par C. Nesbø de l'Université d'Alberta, Edmonton au Canada**. Cette collaboration internationale repose notamment sur le séquençage et l'analyse de nouveaux génomes de *Thermotogales* et de leurs éléments génétiques mobiles.

6-Pertinence du projet au regard du DIS de rattachement (et/ou du DIS secondaire). Si « projet blanc », préciser les raisons de ce choix :

Le projet s'inscrit dans l'axe régional: biodiversité, mer comprenant la valorisation de la biomasse marine et biotechnologies (D3B). Nos études dans ce domaine alimenteront aussi pour partie la recherche et le développement de **nouveaux modèles d'exploitation des ressources vivantes marines (bactéries, archées, virus) (D3D)**. Ces travaux sont également **en forte complémentarité avec le DIS7**. Les recherches proposées se situent à un niveau international élevé pour lequel le site de Brest, pôle de compétitivité mer, rassemble des spécialistes qui contribueront au bon déroulement de ce projet ambitieux. Pour mener à bien les travaux nous utiliserons les grands équipements et structures de la région (Plate-forme d'imagerie et de mesure en microscopie-pimm ; UBOCC (souchothèque de Bretagne) ; Pôle de spectrométrie océane (PSO); plate-forme RMN-RPE-SM)). Notre recherche nécessite un travail à la mer et un échantillonnage. **Afin de prospecter la biodiversité des écosystèmes extrêmes**, nous embarquons régulièrement à bord de navires océanographiques pour des campagnes à la mer. L'accès aux sites hydrothermaux et aux échantillons est facilité via la composante Ifremer de notre UMR ce qui nous permet d'enrichir régulièrement la collection de bactéries et d'archées hyperthermophiles marines regroupées au sein de la souchothèque de Bretagne.

La partie de notre projet concernant l'hypothèse d'une détoxification des métaux lourds via des procédés naturels de « vésiculation » par des micro-organismes marins extrêmes pourra être exploitée dans le cadre d'une collaboration avec l'**université de Rio de Janeiro (Brésil)** via le dépôt d'un **projet H2020 (BIOMETAL)** : BIOprospection of harsh environments conforming a biotechnological optimized microbial chassis platform for the METALlurgic industry. Le principal objectif de ce projet est de développer des biotechnologies pour la métallurgie. Nos recherches viendront en soutien à ce projet H2020 principalement pour la prospection de la biodiversité des écosystèmes océaniques hydrothermaux et plus précisément dans l'identification de micro-organismes métallotolérants afin d'étudier les adaptations cellulaires mises en jeu (stockage et relargage des métaux lourds par des vésicules membranaires).

De plus, dans le cadre d'une **collaboration santé/mer avec le LUBEM** et plus précisément avec l'équipe du Pr C. Payan. Un gène d'un virus isolé au LM2E est actuellement utilisé comme contrôle interne universel (CIU) pour la PCR et autres méthodes moléculaires au CHU de Brest. D'autres études sont en cours et s'inscrivent dans le DIS **D5B-Nouvelles approches thérapeutiques** alliant génétique, **bio-marqueurs** et biomolécules.

Enfin, nos travaux de recherche sont régulièrement présentés sous la forme de cours aux étudiants inscrits en Master recherche (MFA, microbiologie fondamentale et appliquée et Master Sciences Biologiques Marines), formation universitaire dispensée à l'UBO, IUEM et intégrée dans l'École doctorale des Sciences de la Mer.

7-Autres informations utiles (projet relevant des Objets d'excellence -OBEX-, ou des « Projets émergents de recherche » régionaux...):

Le LM2E est membre fondateur du Labex Mer et le projet de thèse s'inscrit dans les thématiques de l'axe 3.

6- Projet de thèse en cotutelle internationale

- **S'agit-il d'un projet de thèse en cotutelle internationale (oui/non) : non**

- **Si oui, préciser l'établissement pressenti (et le pays de rattachement) :**

- **Ce projet de thèse fera-t-il l'objet d'un cofinancement international (oui/non) : non**

(Rémunération du doctorant par l'établissement implanté sur le territoire régional (18 mois sur 36 mois), et l'établissement étranger, qui s'engage également à rémunérer le doctorant dans le cadre de son séjour à l'étranger, soit durant 18 mois -a minima-)

- **En cas de cofinancement international, préciser -si vous en avez connaissance- l'organisation du calendrier des périodes de séjour :**

7- Financement du projet de thèse

- **Part de l'enveloppe financière régionale affectée au projet :**

Financement Région 100 %

Financement Région 50 % (préconisé)

- **En cas de financement à 50 %, le cofinancement est-il déjà identifié (oui/non) : oui**

- **Si oui, préciser la nature du cofinancement (ANR, partenaire privé, Ademe, etc.) :**

Co-financement demandé à l'Université de Bretagne Occidentale, école doctorale EDSM.

- **Si le cofinancement n'est pas encore confirmé, date prévue de réponse du cofinancier :**

- **En cas de non-obtention du cofinancement demandé, une autre source de cofinancement est-elle identifiée (oui/non) :**

Oui, demande au Labex mer axe 3