

**FICHE SUJET DE THESE**

|   |  |  |
|---|--|--|
| Sujet N° (à remplir par l'ED) :   | <b>FINANCEMENT :</b><br><input checked="" type="checkbox"/> Demandé<br><input type="checkbox"/> Acquis | Origine du financement : Politique Doctorale UR1   |
| Titre de la thèse : <b>Décryptage du mécanisme d'action de nouveaux peptides antimicrobiens exprimés par <i>Staphylococcus aureus</i> : vers le développement d'une nouvelle classe d'antibiotiques dérivés de toxines bactériennes.</b>  |  | 3 mots-clés : <b>Peptides antimicrobiens</b><br><b>Analyses structurales</b><br><b>Mécanismes d'action</b> |
| Unité/équipe encadrante : INSERM U1230 « BRM »  |  |  |
| Directeur de thèse : Brice FELDEN   |  | N° de tél : 02 23 23 48 51<br>Mail : brice.felden@univ-rennes1.fr  |
| <p><u>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</u><br/> <b>La résistance aux antibiotiques est un phénomène mondial qui représente une menace pour la santé humaine, animale et environnementale. En 2016, O'Neill souligne que l'antibiorésistance pourrait être responsable de plus de 10 millions de décès par an et ainsi devenir la première cause de mortalité mondiale (O'Neill, 2016). Malheureusement, très peu de nouvelles classes d'antibiotiques sont actuellement disponibles pour traiter efficacement les patients. Il devient donc urgent de proposer et de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques pour contrer les bactéries pathogènes. Grâce à une collaboration débutée depuis 2011 avec l'équipe du Dr Michèle Baudy-Floch de l'Institut des Sciences Chimiques de Rennes (ISCR, UMR 6226), nous avons synthétisé des pseudopeptides cycliques à partir d'une toxine exprimée par la bactérie <i>Staphylococcus aureus</i> (Solecki et al, 2015). Ces pseudopeptides ont été récemment modifiés pour améliorer leur activité antimicrobienne contre des pathogènes d'intérêt clinique <i>in vitro</i> mais également <i>in vivo</i> sur modèles murins d'infection avec un potentiel limité d'émergence de résistance (Nicolas et al, 2019).</b></p>  |  |  |
| <p><u>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</u><br/> <b>Les travaux initiés au laboratoire ont permis l'identification de 5 nouvelles toxines dont la surexpression induit la mort de <i>S. aureus</i> (Pinel-Marie et al, 2014 ; Germain-Amiot et al, 2019 ; Riffaud et al, 2019). Fort de ces découvertes, l'objectif de ce projet de thèse, à l'interface Biologie-Chimie, est de décrypter les mécanismes d'action de ces nouveaux peptides antimicrobiens vis-à-vis de <i>S. aureus</i> mais également d'autres pathogènes d'intérêt clinique, tout en poursuivant les investigations sur les pseudopeptides cycliques, afin de proposer des pistes d'améliorations des peptides dérivés de toxines bactériennes.</b></p>   |  |  |
| <p><u>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</u><br/> <b>Ce projet de thèse interdisciplinaire se décompose en 4 étapes :</b></p> <p><b>1- Synthèse des peptides antimicrobiens :</b> i) chimique, en collaboration avec la société Olgram® (Dr Nicolas), ii) <i>in vivo</i> par <i>S. aureus</i> à l'aide de systèmes de surexpression des peptides marqués ou non (ammonium <sup>15</sup>N, sondes fluorescentes, étiquettes à résidus histidine ou séquence Flag) (INSERM U1230).</p> <p><b>2- Etude <i>in vitro</i> de l'interaction des peptides antimicrobiens avec les membranes cellulaires tant du point de vue des modifications structurales ou conformationnelles induites au niveau des peptides (Dichroïsme Circulaire, ATR-FTIR, Emission de Fluorescence, RMN), que du point de vue des perturbations induites au niveau la membrane (Diffusion de lumière (NTA, DLS), techniques de microscopie (AFM, TEM)) (ISCR-UMR 6226).</b></p> <p><b>3- Analyse du mécanisme d'action des peptides antimicrobiens :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• à l'échelle cellulaire par i) des tests de perméabilité cellulaire, ii) des analyses de microscopie électronique à transmission ou iii) de microscopie à force atomique (AFM) et iv) de RMN (INSERM U1230, ISCR-UMR 6226) ;</li> <li>• à l'échelle moléculaire par i) séquençage à haut débit (RNAseq) et spectrométrie de masse pour identifier les cibles moléculaires (ARN et protéines) des peptides antimicrobiens (INSERM U1230), ii) calorimétrie (DSC, ITC) iii) thermophorèse, ou encore iv) RMN (DOSY, ...) (ISCR-UMR 6226).</li> </ul> <p><b>4- Optimisation des peptides, basée sur toutes les données structurales, cellulaires et moléculaires avec mesure de l'activité antimicrobienne <i>in vitro</i> (CMI, CMB) et <i>in vitro</i> sur modèle murin d'infection en utilisant des isolats cliniques de bactéries pathogènes (INSERM U1230, ISCR-UMR 6226).</b><br/> <b>A l'instar des travaux réalisés sur les pseudopeptides cycliques, ce projet de thèse pourrait, à terme, permettre le développement de cette nouvelle classe d'antibiotiques dérivés de peptides naturels présentant un phénomène limité de résistance afin d'éviter l'impasse thérapeutique à laquelle sont confrontés les cliniciens.</b></p> |  |  |
| <p><u>Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) :</u> Etudiant prêt à s'investir dans un projet combinant biologie moléculaire (clonage de gènes, RT-qPCR, western blot, RNAseq), microbiologie, biologie cellulaire et biophysique/chimie.</p>   |  |  |
| <p><u>3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :</u></p> <p>Nicolas I, Bordeau V, Bondon A, Baudy-Floc'h M, Felden B. "Novel antibiotics effective against gram-positive and -negative multi-resistant bacteria with limited resistance." PLoS Biol. 2019, 17(7):e3000337.</p> <p>Riffaud C, Pinel-Marie ML, Pascreau G, Felden B. "Functionality and cross-regulation of the four SprG/SprF type I toxin-antitoxin systems in <i>Staphylococcus aureus</i>." Nucleic Acids Res. 2019, 47(4):1740-1758.</p> <p>M. Laurencin, M. Simon, Y. Fleury, M. Baudy -Floc'h, A. Bondon, B. Legrand, Selectivity Modulation and Structure of <math>\alpha</math>/aza-<math>\beta^3</math> Cyclic Antimicrobial Peptides. <i>Chem. Eur. J.</i> <b>2018</b>, 24, 6191-6201.</p>   |  |  |
| Collaborations nationales et internationales : Non  |  |  |