

PROPOSITION DE SUJET DE THESE

Formulaire demande de financement : ARED - ISblue – Etablissement(s) - ...

pour dépôt sur le serveur [SML — TEBL \(doctorat-bretagne.oreil.fr\)](http://SML — TEBL (doctorat-bretagne.oreil.fr)) au format PDF

NB : ce dossier ne vous dispense pas de déposer en parallèle votre dossier sur l'extranet de la Région

Acronyme : TyBioVir

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

Établissement porteur du projet : UBO UBS Institut Agro Rennes

IMTA ENSTA ENIB

Ecole Doctorale : EDSML

SPI BZH SPIN MATHSTIC Bretagne Océane pour les projets ISblue

Identification du projet

Intitulé du projet	Rôle du système de sécrétion de type 6 dans le biofilm et la virulence bactérienne.
Nom	BAZIRE
Prénom	Alexis

Demande d'ARED

Se reporter à la notice ARED Région Bretagne et préciser :

Priorité régionale	One Health », à la croisée de la santé publique, de la santé animale et de la santé environnementale
DIS	3
Levier thématique	Biothérapie innovante
DIS secondaire	
Levier thématique secondaire	
Axe transversal	

Organisme de tutelle : encadrement et unité de recherche

Porteur du projet HDR

Date obtention de l'HDR	2015
-------------------------	------

Nom	BAZIRE
Prénom	Alexis
Adresse électronique	alexis.bazire@univ-ubs.fr
Tel	02.97.87.45.91
Expérience d'encadrement	10 thèses encadrées / 9 M2

Unité de recherche

Nom de l'unité	Laboratoire de Biotechnologie et Chimie Marines
Acronyme de l'Unité (umr xx, ...)	EMR6076
Nom et prénom du responsable	Linossier Isabelle
Le cas échéant, nom de l'équipe de recherche	
Le cas échéant, nom du responsable de l'équipe de recherche	

Co-directeur de thèse – si nécessaire

Nom	
Prénom	
Unité de recherche	
Etablissement de tutelle	
Expérience d'encadrement	

Co-encadrant (s) de thèse – si nécessaire

Nom	
Prénom	
Unité de recherche	
Etablissement de tutelle	
Expérience d'encadrement	

Nom	
Prénom	
Unité de recherche	
Etablissement de tutelle	
Expérience d'encadrement	

Description du projet : complément

Lieu principal de déroulement du projet en Bretagne : UBS Lorient

Lieu principal de déroulement du projet si hors Bretagne :

Libellé (attention veiller à respecter le nombre de caractères imposés par le serveur de la Région)
<p>Résumé synthétique du projet (2 000 caractères maximum)</p> <p>La pathogénicité bactérienne se manifeste généralement par deux phénomènes : la virulence aigüe et la virulence chronique, ainsi en fonction des conditions environnantes, soit les bactéries attaquent leur hôte soit elles y persistent.</p> <p>La virulence chronique est associée à la capacité des bactéries à coloniser leur hôte sous la forme d'un biofilm, une forme de vie communautaire, sessile, dans laquelle les bactéries échangent des informations sur leur environnement pour s'y adapter, le tolérer (stress hyperosmotique, oxydatif...) voire même d'y résister (système immunitaire, antibiotiques, polluants...). Lorsque les conditions s'améliorent, certaines bactéries quittent le biofilm pour passer en mode virulence aigüe et produisent alors des enzymes et des substances toxiques, qui diffusent, sont sécrétées ou injectées directement dans les cellules cibles <i>via</i> des systèmes de sécrétion.</p> <p>Ces deux modes de virulence sembleraient ne pas s'opérer simultanément, mais plutôt alternativement. Et pourtant, nous avons précédemment observé chez un pathogène marin (<i>Vibrio tapetis</i>) que le système de sécrétion de type VI (T6SS), impliqué dans la virulence aigüe, était largement induit lorsque les bactéries sont en mode biofilm (Rodrigues et al., 2018). Nous pensons donc que ces deux phénomènes ne sont pas si exclusifs et que d'autres facteurs de virulence aigüe pourraient être également induits dans le biofilm.</p>
<p>Hypothèses, questions posées, points de blocage, approche méthodologique, technique (4 000 caractères maximum)</p> <p>L'objectif de ce projet de thèse est d'étudier le lien entre le système de sécrétion de type VI et le biofilm de deux pathogènes : <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, largement étudiée pour ses virulences chronique et aigüe, notamment chez les patients atteints de mucoviscidose. Et <i>V. tapetis</i>, pour laquelle nous savons que les gènes du T6SS sont induits en biofilm (Rodrigues et al., 2018).</p> <p>Nous avons précédemment montré que le facteur sigma AlgU de <i>P. aeruginosa</i> est impliqué dans la formation de biofilm et dans la production de facteurs de virulence (Bazire et al., 2010). AlgU permet également la réponse au stress hyperosmotique, un stress rencontré dans le mucus pulmonaire des patients atteints de mucoviscidose. Chez <i>P. aeruginosa</i>, il existe trois T6SS, une première analyse de la région régulatrice du premier gène de chaque système (<i>hsiA1</i>, <i>hsiA2</i> et <i>hsiA3</i>) nous a permis d'identifier des séquences potentiellement reconnues par AlgU. Nous avons donc réalisé en préambule de ce projet, une expérience montrant la diminution de la transcription de <i>hsiA1</i> et <i>hsiA2</i> chez le mutant <i>algU</i>, indiquant donc une régulation de ces deux systèmes par AlgU.</p>

Ceci ouvre énormément de perspectives car indique que l'expression des gènes du T6SS de *P. aeruginosa* serait induite en réponse au stress hyperosmotique et en biofilm, deux conditions dépendantes d'AlgU.

1 Étude de la régulation transcriptionnelle des gènes des T6SS chez *P. aeruginosa*.

Nous travaillerons en condition biofilm et en culture planctonique, avec ou sans stress hyperosmotique, et dans les 4 cas avec la souche sauvage PAO1 et son mutant *algU*, et deux souches cliniques isolées de patients atteints de mucoviscidose.

Une approche transcriptomique globale nous permettra d'identifier les gènes de virulence aigüe induits dans ces conditions.

Une approche ciblée nous permettra de décrire plus particulièrement la régulation transcriptionnelle des gènes *hsiA1*, *hsiA2* et *hsiA3* du T6SS en fonction des conditions précédentes, à l'aide de biorapporteurs à construire lors de cette thèse.

2. Le système de sécrétion de type VI, lien entre le biofilm et la virulence.

Nous développerons également un modèle d'infection de cellules pulmonaires humaines avec l'objectif d'observer par microscopie confocale les mécanismes d'infections et/ou de formation du biofilm de différents mutants : *algU* (déjà construit), *hsiA1*, *hsiA2* et *hsiA3* (à construire). Nous maîtrisons la technologie de microscopie et la technique de mutagenèse, nous assurant *a minima* de déterminer l'implication des gènes dans la formation du biofilm sur support abiotique. La culture cellulaire est maîtrisée également, nous assurant *a minima* l'observation de la virulence aigüe des mutants. Le défi sera de croiser ces techniques en observant au microscope le biofilm directement sur cellules pulmonaires, un défi majeur puisque généralement la présence des bactéries entraîne une forte mortalité cellulaire.

La compréhension de ces phénomènes et surtout de l'implication du système de sécrétion de type VI dans la virulence chronique pourrait permettre d'ouvrir des perspectives de traitement autre que les antibiotiques, notamment dans un contexte de mucoviscidose.

Concernant *V. tapetis*, des mutants du T6SS seront créés, puis leur aptitude à former du biofilm sera évaluée par microscopie. En parallèle des balnéations avec des palourdes seront effectuées pour déterminer la virulence des mutants. Le principal défi ici est la création de mutants, qui est moins aisée que chez *P. aeruginosa*.

D'un point de vue général et dans un contexte de santé globale (One Health), l'étude de ces deux espèces bactériennes permettra de déterminer le rôle du T6SS dans la virulence chronique et aigüe chez deux pathogènes ayant des cibles et des environnements différents, mais qui à cause des activités humaines pourraient se retrouver dans la niche écologique de l'autre. Identifier un processus commun de pathogénicité pourrait ainsi prévenir certains risques d'émergence de nouvelles pathologies.

Environnement scientifique, positionnement dans contexte régional/national/international (2 000 caractères maximum)

Ce projet de thèse alimentera principalement la question de recherche 3 (QR3) du LBCM EMR6076 portant sur le lien entre la virulence et le biofilm bactérien. Des tests d'adhésion des mutants du système de sécrétion de type VI pourraient être également réalisés sur des revêtements à usages médicaux élaborés dans un autre axe de recherche du LBCM.

Ce projet de thèse s'inscrit dans l'écosystème Environnement, Santé & Handicap, de l'Université Bretagne Sud, plus particulièrement dans la partie Biosanté et ainsi dans le cadre du Contrat Plan État Région (CPER) Bioalternative.

Nous sommes une équipe spécialisée dans l'étude du biofilm de *P. aeruginosa* et n'avons pour l'instant pas exploré le rôle du système de sécrétion de type 6 dans ce contexte. Ces systèmes de sécrétion sont cruciaux dans la pathogénicité des bactéries et dès lors très étudiés chez *P. aeruginosa*. Toutefois, très peu d'équipes ont exploré le lien entre le biofilm et le T6SS avec une expertise biofilm comme la nôtre. Quelques articles récents commencent à aborder le sujet, témoignant d'une niche à explorer. En France, nous avons identifié essentiellement des équipes de Marseille du Laboratoire d'ingénierie des systèmes Macromoléculaires (LISM) et d'Évreux du laboratoire Communication Bactérienne et stratégies anti-infectieuses (CBSA). Nous collaborons depuis longtemps avec le CBSA, leur avons exposé nos hypothèses, et ils ont accepté de collaborer. A l'étranger, nous avons identifié deux équipes avec lesquelles nous sommes déjà en contact, celle de Fitnat Yildiz (UCSC, Californie) qui travaille sur les *Vibrio* et celle d'Alain Filloux (SCELSE, Singapour) qui travaille chez *P. aeruginosa*, ce dernier a déjà montré son intérêt pour le sujet et collaborera également avec nous.

Collaborations scientifiques (nature/partenariat/pays) et partenariat socio-économique envisagé

Pour nous aider à mener ce projet, des collaborations seront menées avec pour objectif des séjours d'études expérimentales et des échanges de souches et constructions moléculaires. Avec le centre de recherche Saint Antoine- Institut Pasteur qui travaille sur les interactions *P. aeruginosa* / cellules humaines, avec une équipe de l'Université de Bretagne Occidentale capable de reconstruire *in vitro* un épithélium pulmonaire humain sur lequel nous pourrions faire interagir les souches bactériennes, et avec Alain FILLoux Singapour (SCELSE) spécialiste de renommée mondiale dans l'étude des systèmes de sécrétion bactériens, c'est une véritable chance pour notre projet de pouvoir compter sur cette collaboration. La virulence des mutants sera également évaluée sur un organisme modèle (*Galleria mellonella*) en collaboration avec le CBSA (Université de Caen-Normandie et Rouen-Normandie).

Pour les demandes Région Bretagne

Adéquation du projet avec le DIS de Rattachement
Pour les demandes Région Bretagne (3 000 caractères maximum)

Ce projet de thèse s’inscrit dans la stratégie régionale de recherche et d’innovation (S3) de la Région Bretagne dans la thématique prioritaire : « One Health », à la croisée de la santé publique, de la santé animale et de la santé environnementale. En effet, nous chercherons à comprendre l’influence du système de sécrétion de type 6 dans les mécanismes de virulence de 2 types de pathogènes, l’un pour l’Homme, l’autre pour des animaux marins qui rentrent dans la consommation humaine. Cette compréhension pourrait nous permettre d’envisager des moyens de lutte contre les infections bactériennes par d’autres moyens que les antibiotiques. Leur usage abusif et leur déversement dans l’environnement par les eaux usées entraîne en effet l’apparition de bactéries multi résistantes, représentant un problème majeur de santé publique.

Le/la doctorant-e sera incité-é à s’impliquer dans des actions de médiation scientifique. Moi-même étant ambassadeur de la fête de la science Morbihan nommé par le DRARI Bretagne, je solliciterai la personne pour exposer son projet scientifique au plus grand nombre et sous une forme toujours adaptée à son public.

Si priorité régionale, préciser (200 caractères maximum)

Ce projet de thèse s’inscrit dans la stratégie régionale de recherche et d’innovation (S3) de la Région Bretagne dans la thématique prioritaire : « One Health », à la croisée de la santé publique, de la santé animale et de la santé environnementale.

Demande de (co)financement ISblue

Vous sollicitez un financement ISblue,

Précisez le lien du sujet avec les thèmes ISblue

Thème ISblue	Thème principal	Thème secondaire (si nécessaire)	Autre (si nécessaire)
la régulation du climat par l’océan			
les interactions entre la Terre et l’océan			
la durabilité des systèmes côtiers			
l’océan vivant et les services écosystémiques			
les systèmes d’observation à long terme			

Expliquez/précisez en quelques lignes dans quelle mesure votre demande correspond à l'un ou plusieurs des critères ISblue ci-dessous :

1- Originalité, impact potentiel du projet (4 lignes maxi)

2- Positionnement international du sujet, cotutelle ou co-encadrement international (4 lignes maxi)

3- Effet intégrateur entre unités de recherche et / ou interdisciplinarités (4 lignes maxi)

4- Potentiel d'insertion à un haut niveau dans la communauté académique ou non académique du docteur (4 lignes maxi)

Financement du projet de thèse

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.*) : **½ CDE UBS**

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*) :

Si oui, laquelle :

Sollicitez-vous un co-financement Is-Blue (*oui/non*) ? **NON**

Important : Veillez à bien compléter les différents co financements sollicités sur le serveur Thèses en Bretagne Loire lors du dépôt de votre dossier.

Projet de thèse en cotutelle internationale

S'agit-il d'un projet de thèse en cotutelle internationale dans le cadre d'une convention (*oui/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) :

(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 :

Préciser quel est le stade du projet international (joindre une lettre d'engagement du partenaire)

Vous sollicitez un financement UBO EDSML qui sera porté à la décision du Conseil de l'ED

Indiquez le ici, oui non **et sur le serveur TEBL (indispensable)**

Le candidat

Profil souhaité du candidat (spécialité/discipline principale, compétences scientifiques et techniques requises) : Microbiologiste avec des compétences en biologie moléculaire, et idéalement des connaissances en culture cellulaire et interaction hôte/microorganisme

ATTENTION : Tout dossier non déposé sur le serveur dans les délais indiqués, ne pourra être pris en compte notamment par les instances ISblue, conseil de l'EDSML.

Veillez à enregistrer votre document au format NOM du porteur /Acronyme labo.pdf