

PROPOSITION DE SUJET DE THESE

Formulaire demande de financement : ARED - ISblue - ETABLISSEMENTS - ...

*pour dépôt sur le serveur <https://theses.u-bretagne.fr/sml> au format PDF**NB : ce dossier ne vous dispense pas de déposer en parallèle votre dossier à la Région*

Identification du projet

Acronyme du projet (8 caractères *maximum*) : DADIIntitulé du projet *en langue française* : Déterminisme de l'adhésion des diatoméesIntitulé du projet *en langue anglaise* : Determinism of adhesion of Diatom

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

Établissement porteur du projet : Université de Bretagne Sud

Ecole Doctorale : EDSML SPI ou MATHSTIC pour les projets ISblue

Identification du responsable du projet (futur directeur de thèse)

Nom du laboratoire d'accueil :	Laboratoire de Biotechnologie et de Chimie Marines – IUEM - Lorient
Code du laboratoire (U/UMR/USR/EA/JE/...) :	EA 3884
Directeur ¹ du Laboratoire :	Pr Isabelle LINOSSIER
Nom de l'équipe de recherche :	Biofilm et Microbiome

Nombre HDR dans le laboratoire : 8 Nombre de thèses en cours : 11 Nombre de post-docs en cours : 1

Nom et prénom du directeur* de thèse (HDR), porteur du projet : Dr LE PENNEC, Gaël

- e-mail : gael.le-pennec@univ-ubs.fr

- Téléphone : 06.21.01.44.11

- Publications récentes du directeur de thèse (*nb total et 5 références max au cours des 5 dernières années*) :
nb total = 36

Characterization of the *in vitro* production of N-acyl homoserine lactones by cultivable bacteria inhabiting the sponge *Suberites domuncula*. 2016. J. Bin Saidin, M.E. Abh Wahid, G. Le Pennec. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. 5: 1-9.

Quality assessment of cryopreserved black-lip-pearl oyster *Pinctada margaritifera* spermatozoa. 2018. M. Demoy-Schneider, N. Schmitt, G. Le Pennec, M. Suquet and J. Cosson. Aquaculture. 497: 278-286.

The Lipid A structure from the marine sponge symbiont *Endozoicomonas* sp. HEX 311. 2019. M. Pallach, F. Di Lorenzo, KA. Duka, G. Le Pennec, A. Molinaro, and A. Silipo. ChemBiochem. doi: 10.1002/cbic.201800441.

¹ Ce formulaire est rédigé en style épïcène

The challenge of the sponge *Suberites domuncula* (Olivi, 1792) in the presence of a symbiotic bacterium and a pathogen bacterium. 2019. G. Le Pennec and J. Gardères. Genes. 10: 485. <https://doi.org/10.3390/genes10070485> (IF: 3.331)

The microbiome of *Codium tomentosum*: original status and in the presence of copper. 2019. G. Le Pennec and E. Ar Gall. World J Microbiol Technol. 35: 167 (IF: 2,659)

- Expériences d'encadrement et co-encadrement de doctorants (passées et en cours)

(nom des doctorants dirigés et en cours et antérieurement, sur les 6 années passées : sujet, financement, date de soutenance, et situation professionnelle actuelle si connue)

Mme S. Créquer. Participation : 70 % en codirection avec le docteur P. Sauleau (30%) (Université de Bretagne-Sud) (années 2015-2016, arrêt pour raison médicale). *Mécanismes de recrutement et d'installation de bactéries métallo- et organo remédiantes chez les spongiaires*.

Financement : MRE

Situation actuelle : restauration

M. I. Krikech. Participation : 50 % en codirection avec le professeur Mohammed Ezziyyani (Université Abdelmalek Essaâdi, Tétouan, Maroc) (années 2016- *en cours*). *Impact de polluants chimiques sur l'écosystème marin. Spécificité du littoral de la Région Tanger-Tétouan- Al Hoceima*.

Financement : Bourse du gouvernement marocain

Mme D. Chérel. Participation : 30 % en codirection avec le professeur P.G. Beninger (Université de Nantes) (années 2016-2020). *L'atrésie ovocytaire chez les mollusques bivalves. Identification, déroulement cytologique, conséquences pour le recrutement en milieu naturel et aquacole*.

Financement : CDE

Situation actuelle : ATER

M. A. Sonko. Participation : 50% en co-direction avec le docteur P. Brehmer (Institut de Recherche pour le Développement) (années 2018- *en cours*)

Diagnostic écotoxicologique de la pollution marine au Sénégal.

Financement : Campus France

Co-directeur de thèse (HDR ou équivalent étranger) éventuel : Dr BOURGUET-KONDRACKI, Marie-Lise

Laboratoire de recherche : Molécules de communication et Adaptation des microorganismes (MCAM) – Muséum D'histoire Naturelle Paris – UMR 7245

- e-mail : marie-lise.bourguet@mnhn.fr

- Téléphone : 01 40 79 56 06

- Expériences d'encadrement et co-encadrement de doctorants (passées et en cours)

Germana Esposito (ED 227, MNHN), en co-tutelle avec V. Costantino (Professeur/Université Federico II de Naples) : « Stereostructural studies and biological activities of secondary metabolites from marine sources », thèse soutenue le 18 mai 2017.

Cléa Bauvais, (ED IViv, Paris VI), en co-tutelle avec S. Zirah (MCM/MCAM) : « Diversité chimique et bactéries associées à *S. officinalis*, une éponge marine accumulatrice de métaux », thèse soutenue le 4 mars 2015.

Samuel Dupont (ED IViv, Paris VI), co-encadrement A. Carré-Moulka (MCM/MCAM): « Diversité biologique et moléculaire du compartiment bactérien de l'éponge carnivore *Asbestopluma hypogea* », thèse soutenue le 29 octobre 2013.

Et/ou co-encadrant-e scientifique : Pr LINOSSIER, Isabelle

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biotechnologie et de Chimie Marines – IUEM - Lorient

- e-mail : isabelle.linossier@univ-ubs.fr

- Téléphone : 02 97 87 46 81

- Expériences d'encadrement et co-encadrement de doctorants (passées et en cours)

Tiffany Le Norcy, « Nouveaux composés antifouling » 2014-2017, co-direction avec Fabienne Fay & Karine Rehel (LBCM Université de Bretagne Sud). Financement ARED/CDE

Insertion professionnelle : Ingénieur dans la société ENERCAT

Mathieu Scalabrini, « Etude de l'activité anti-bioadhésion de surfaces hydrophobes greffées par des sucres furanosidiques rares » 2016-2019 Co-encadrement avec Karine Rehel (LBCM Université de Bretagne Sud) & Vincent Ferrière (Institut des Sciences Chimiques de Rennes – UMR Chimie organique et supramoléculaire). Financement CDE

Insertion professionnelle : Post-Doctorat

Guillaume Gillet, « Synthèse de silicones amphiphiles pour l'élaboration de revêtements antisalissures » 2017-2020 (arrêt pour raison médicale), co-direction avec Fabienne Fay (LBCM Université de Bretagne Sud). Financement CIFRE

Florian Traon, « Etude des mécanismes d'adhésion de microalgues marines aux surfaces antifouling » 2017-2020, co-direction avec Fabienne Fay (LBCM Université de Bretagne Sud). Financement ARED/CDE. Soutenance mars 2021

Amidou Sonko, « Diagnostic écotoxicologique de la pollution marine au Sénégal » 2018-2021, Co-tutelle Université Cheikh Anta Diop de Dakar, co-direction avec Pr Fabrice Brehmer (IRD Institut de Recherche pour le Développement, UBO, Brest)

Financement : Campus France

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.) : Muséum National d'Histoire Naturelle, MNHN ED 227

Si le cofinancement n'est pas encore confirmé, date prévue de réponse du cofinancier : Juillet 2021

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

Si oui, laquelle :

Sollicitez-vous un co-financement Is-Blue (y compris ARED Is-Blue) (oui/non) ? Oui

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) : 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 :

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

Présentation du projet (en langue française ou anglaise, 2 à 3 pages)

merci de respecter ce format maxi compatible avec extranet région

Résumé du projet (4000 caractères maxi espaces compris) :

Les diatomées sont des microorganismes aquatiques primo-colonisants des structures immergées à l'origine de leur encrassement. Les travaux orientés vers le développement de revêtements antifouling proposent différentes stratégies de lutte comme par exemple des revêtements antifouling érodables ou des surfaces micro/nano-structurées. Tous ces travaux spéculent que les diatomées disposeraient d'un mécanisme d'adhésion commun aux différents substrats proposés. Sous-entendu à ces travaux, quel que soit le revêtement proposé, les diatomées mettraient en place une seule et même mécanistique cellulaire et moléculaire pour adhérer ; seules les propriétés du revêtement facilitent ou non l'adhésion des molécules biologiques sécrétées par la microalgue. A l'heure actuelle, cette idée reste purement spéculative. En effet, il n'a jamais été démontré que les diatomées étaient ou non aptes à adapter leur stratégie d'adhérence par exemple en produisant des molécules d'adhésion spécifiques à chaque revêtement en présence. Nous proposons donc un sujet de thèse qui permettra d'apporter des éléments de réponse quant à la présence ou non, chez les diatomées, d'un mécanisme moléculaire de l'adhésion spécifique du substrat rencontré selon deux approches : - l'une génétique par une étude transcriptomique ; - l'autre métabolomique par une étude de data science.

Présentation détaillée du projet :

1 - Hypothèse et questions posées, état de l'art, identification des points de blocages scientifiques (4000 caractères maxi espaces compris)

Ce projet s'inscrit dans le domaine d'innovation et objectifs stratégiques de la Région Bretagne DIS 1 et, plus particulièrement dans le sous-domaine 3 « Développer les biotechnologies et les bioressources marines ». Il s'inscrit également dans thème de recherche ISblue « Durabilité des écosystèmes côtiers » notamment en réponse au projet concernant l'émergence et l'évolution de nouvelles activités humaines.

Le sujet de thèse proposé est en collaboration entre le Laboratoire de Biotechnologie et de Chimie Marines (LBCM-Lorient, Dr G. Le Pennec, HDR, 33% ; Pr I Linossier, 33%) et le laboratoire des Molécules de Communication et Adaptation des Microorganismes (Muséum d'histoire naturelle de Paris, Dr, M.L. Bourguet-Kondracki, HDR, 33%).

Les diatomées sont des organismes très précoces du microfouling, colonisant aisément les surfaces anthropiques immergées et à l'origine de bio salissures délétères et économiquement coûteuses. A ce jour aucune stratégie de lutte contre ces dernières ne donne de résultat satisfaisant à leur rencontre. L'idée, originale, est donc d'inverser la problématique, de se placer du point de vue de la diatomée et non pas de la conception du revêtement et de réfléchir à un potentiel mécanisme adaptatif du microorganisme aux différentes surfaces artificielles qui lui ont été proposées. Ultimement, la description de ce mécanisme adaptatif permettra d'orienter la conception des revêtement anti-adhésion.

Le sujet ici envisagé fait l'hypothèse suivante :

Les diatomées sont capables de modifier leur stratégie moléculaire d'adhésion en fonction du substrat rencontré.

Principaux points de blocage : Un premier point de blocage réside dans les cultures de diatomées qui se font sur des surfaces de dimensions réduites. La conséquence en est que l'extraction des métabolites et des ARN est limitée. Si ceci ne posera pas de problème lorsque seront identifiés les métabolites et gène d'intérêt, cela reste un obstacle à surpasser lors du screening des métabolomes notamment, à la recherche des métabolites différentiellement exprimés. Actuellement, nous sommes limités par la taille des supports de culture ce qui, néanmoins a l'avantage, lorsque nous les multiplions, d'augmenter le nombre d'études augmentant la robustesse des statistiques réalisées sur les résultats. Le second point de blocage serait de ne pas mettre de stratégie adaptative des diatomées en fonction de substrats proposés, *i.e.* ces microalgues disposeraient d'un seul et même mécanisme d'adhésion

quelque soit le support rencontré.

2 - Approche méthodologique et techniques envisagées : (4000 caractères maxi espaces compris)

Pour in-/confirmer cette hypothèse de travail, la diatomée *Phaedactylum tricornutum* servira de modèle d'étude. En effet, le génome est décrit et elle est génétiquement transformable ce qui nous permettrait de réprimer ou de surexprimer des gènes impliqués dans le phénomène d'adhésion facilitant ainsi l'approche de ce phénomène (collaboration Dr A. Falciatore - Sorbonne université). Des études d'adhérence seront menées sur des surfaces de verre (surface de référence), de polystyrène (possibilité d'utiliser de grandes surfaces et donc de collecter ARN et métabolomes en quantités suffisantes pour mener à bien les études) pour en révéler l'influence sur la stratégie d'adhésion de la micro-algue. Nous mesurerons la réponse de la diatomée à deux niveaux complémentaires : transcriptomique (LBCM) et métabolomique (MCAM). Les expériences seront menées sur des séries statistiquement reproductibles. La convergence des résultats devrait permettre de conclure quant à l'existence, chez *P. tricornutum*, d'un mécanisme adaptatif spécifique d'adhésion sur différents revêtements et, à l'avenir, d'adapter les stratégies antifouling des revêtements antisalissures.

Présentation détaillée : La stratégie d'adhésion de *P. tricornutum* à différents substrats sera étudiée à deux niveaux complémentaires : transcriptionnel (LBCM en collaboration avec la SBR) et métabolomique (MNHN). Les adhésions de référence se feront sur des surfaces de verre et comparées à celles sur surfaces de polystyrène.

Objectif 1 : Etude transcriptomique recherchant les gènes impliqués dans l'adhésion en fonction des substrats. Après le conditionnement de cultures synchronisées de *P. tricornutum* sur différents supports de culture, les ARN totaux seront extraits et séquencés à partir de cinq cultures individualisées par nature de supports. Des analyses bioinformatiques permettront d'identifier les gènes différentiellement exprimés au cours des processus d'adhésion. Afin de vérifier l'implication véritable des gènes d'intérêt dans l'adhésion, ceux-ci pourront être surexprimés ou inhibés (Collaboration, Dr A. Falciatore – Sorbonne Université). Le génome de *P. tricornutum* est publié, les outils de modification génétiques sont disponibles facilitant ainsi notre démarche expérimentale.

Objectif 2 : Etude métabolomique pour caractériser les molécules impliquées dans les phénomènes d'adhésion. Les profils HPLC d'extraits organiques de différentes cultures de *P. tricornutum* seront réalisés par HPLC couplée à un détecteur à barrette de diodes (HPLC/DAD/ELSD). Différents types de colonnes et d'éluents seront testés de manière à obtenir des profils reproductibles pouvant être comparés. La stratégie de dérégulation pour une identification rapide des composés connus sera associée à des méthodes à haute résolution d'HPLC-MS combinés à des recherches dans les banques de données et réseaux moléculaires. Des profils RMN ¹H seront comparés et des analyses statistiques entreprises. Les molécules d'intérêt seront purifiées en utilisant HPLC/DAD/ELSD et leurs structures élucidées par des méthodes de spectrométries RMN 1D et 2D (CSOY, HMQC, HMNC et NOESY) et de spectrométrie de masse.

Attendus du projet : 1- Favoriser la compréhension des mécanismes moléculaires sous tendant l'adhésion des diatomées à une surface ; 2- Favoriser l'innovation dans le design de matériaux antifouling en tenant compte de la réalité du processus d'adhésion des diatomées. Ceci pourrait conduire dans le futur à mieux cibler les efforts des travaux dans les stratégies antifouling.

Perspectives : 1- Développer des outils de diagnostic telles les puces à ADN pour comparer l'expression des gènes impliqués dans l'adhésion lors du développement de nouveaux revêtements, en présence d'organismes co-colonisants comme les bactéries ou leurs exoproduits ; 2- Cibler spécifiquement les métabolites impliqués dans les phénomènes d'adhésion pour prévenir leur action ; 3- Définir de nouvelles surfaces et tester leur efficacité antifouling.

3 - Positionnement et environnement scientifique dans le contexte régional, national et international :

Le biofouling est un phénomène inhérent à toutes structures immergées en milieu marin : navires, matériels aquacoles, structures des installations d'énergie marine (éoliennes, hydroliennes) engendrant la mise en œuvre de moyens curatifs et préventifs onéreux. Les revêtements actuels représentent un marché fortement concurrentiel et très porteur (plus de 700 millions de dollars par an pour le seul secteur du transport maritime). La protection des surfaces immergées s'avère indispensable y compris celles placées à des profondeurs dépassant 20 mètres. Les pressions sociétales et réglementaires liées à la protection de l'environnement conduisent à une forte restriction d'usage des composés toxiques. Dès lors, une stratégie basée sur les propriétés de surface des matériaux et/ou revêtements (faible énergie, élasticité) s'est imposée et consiste à réduire les forces d'interaction entre les organismes et les surfaces pour faciliter leur décrochage lors d'une contrainte mécanique modérée (courants, déplacements lents). De plus, ces surfaces Fouling-Release (FR) ne répondent qu'en partie aux exigences car elles demeurent fortement et durablement colonisées par des micro-organismes et notamment par les diatomées. Le développement des salissures suit un processus communément admis impliquant

d'abord le microfouling (bactéries, micro-algues) puis des spores et larves d'espèces du macrofouling (algues, bivalves, crustacés). Parmi les organismes pionniers de la colonisation primaire, les bactéries ont été très étudiées : leurs mécanismes d'adhésion, de colonisation, de structuration du biofilm sont bien décrits dans la littérature (Dang and Lovell, 2015 ; Flemming *et al.*, 2016). Les diatomées benthiques sont également des acteurs précoces et majeurs du fouling des surfaces en formant un film tenace et résistant (Wetherbee *et al.*, 1998 ; Molino and Wetherbee, 2008 ; Thompson and Coates, 2017). Toutefois, elles n'ont pas fait l'objet de nombreuses études. Plus particulièrement, la connaissance des processus impliqués dans leur adhésion reste parcellaire. Les quelques publications disponibles soulignent l'intérêt de mieux appréhender le rôle de différents facteurs pouvant être déterminants dans l'adhésion des diatomées : la topographie de la surface (favorisant les points d'accroche), le conditionnement par des exoproduits (exoproduits, molécules de communication). L'aspect topographique des surfaces est un argument dans la prévention de la colonisation. Scardino *et al.* (2006, 2008) et Scardino (2009) ont testé l'influence de surfaces de polycarbonates striées de quelques (2 µm) à plusieurs centaines de micromètres (512 µm) et ont démontré que les stries aux dimensions inférieures à celles des diatomées réduisaient leur attachement et, celles aux dimensions supérieures le favorisait.

4 - Contexte scientifique et partenarial : éléments généraux (ERC, CPER, FEDER, Breizhcop ...) (4000 caractères maxi espaces compris)

Ce travail qui préfigure une collaboration de type ANR permet de fédérer autour de ce sujet de thèse plusieurs laboratoires français et internationaux aux compétences complémentaires : le LBCM (UBS – Dr G. Le Pennec & Pr I Linossier), le MCAM (MNHN-Paris – Dr ML Bourguet-Kondracki) et également l'UMR7238CNRS – Sorbonne Université (Dr A. Falciatore), l'UMR7144 - Station Biologique de Roscoff, Sorbonne Université (Dr A. Tanguy), le département de Pharmacie de l'Université de Naples (Dr V. Costantino).

Vous sollicitez un financement ISblue, ou une ARED 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	X		
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)

L'originalité de ce sujet tient au fait qu'il va à l'inverse de la démarche actuellement proposée dans la conception des antifouling. Au vu de l'inefficacité des revêtements actuels, nous prenons le contrepied de cette démarche en nous plaçant du point de vue de l'organisme colonisateur en nous interrogeant sur la possibilité qu'il aurait d'adapter sa stratégie de colonisation en fonction du support proposer.

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)

Cette thèse viendra renforcer une collaboration qui s'est établie en 2020 entre le LBCM et le MCAM notamment par la réalisation d'un CRCT de six mois par le porteur de ce projet, Dr G. Le Pennec, au MNHN. Elle a pour but de fédérer des équipes de recherche afin d'ouvrir cette thématique à une ANR future.

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

Le docteur bénéficiera, outre d'un réseau de scientifiques, d'une double compétence en chimie et en biologie en appréhendant des disciplines telles que les sciences métabolomiques (RMN, Data mining...) et génomiques (Transcriptomic, transformation génétique...)

Le candidat

Profil souhaité du candidat (spécialité/discipline principale, compétences scientifiques et techniques requises) :

Le candidat devra avoir de fortes compétences ou en chimie analytique ou en génétique. Idéalement, il aura une expérience en culture de microalgues. Un candidat pharmacien, de nationalité italienne, Andrea CASTALDI, est recruté pour son stage de M2 ce premier semestre 2021 dans la perspective de poursuivre sur ce sujet de thèse. Au cours de ce stage, il anticipera notamment sur le choix de la méthodologie d'extraction (technique et solvants) des métabolites de manière à en obtenir la meilleure représentativité possible.

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.