

FICHE SUJET DE THESE

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	FINANCEMENT : <input checked="" type="checkbox"/> Demandé <input type="checkbox"/> Acquis	Origine du financement : CDO
Titre de la thèse : Redondance fonctionnelle au sein des régulateurs bactériens : caractérisation des co-régulations de sARN de <i>Staphylococcus aureus</i> par des facteurs de transcription et implication dans la virulence.		3 mots-clés : <i>S. aureus</i> , simple hybride hétérologue, sARN
Unité/équipe encadrante : U1230_BRM, EA2311 / laboratoire de Biochimie pharmaceutique		
Directrice ou Directeur de thèse : Astrid Jouvante Rouillon		N° de tél : 0223234394 Mail : astrid.rouillon@univ-rennes1.fr Année de l'HDR : 2020
<u>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</u> Les infections à bactéries multirésistantes (BMR) représentent des enjeux majeurs de santé publique et un fardeau économique. En 2019, 1,2 million de décès ont été attribués à une infection dues à BMR (Murray <i>et al</i> , 2022). Ces bactéries sont une menace du fait de la difficulté à trouver des traitements efficaces aux infections. Parmi les ESKAPE, <i>S. aureus</i> est une bactérie commensale portée de manière asymptomatique par environ 30% de la population. Elle est impliquée dans plus de la moitié des infections cutanées mais est également responsable de bactériémies, d'ostéomyélites et d'endocardites. Le succès d'une infection à <i>S. aureus</i> est lié à sa capacité à coordonner l'expression de nombreux facteurs de virulence à des moments-clés, mais également à s'adapter aux changements environnementaux. A cette fin, <i>S. aureus</i> exprime des régulateurs protéiques tels les facteurs de transcription (FT) et les systèmes à 2 composants (TCS), ainsi que des régulateurs de type ARN que sont les ARN régulateurs (sARN). Malgré un rôle crucial dans la régulation transcriptionnelle et post-transcriptionnelle, les gènes correspondants sont rarement essentiels à la survie de la bactérie. Ceci s'explique par le fait que les FT et les sARN sont imbriqués dans des régulations complexes où plusieurs FT régulent le même sARN, et où plusieurs sARN régulent la même cible (Menard <i>et al</i> , 2022).		
<u>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</u> Ces redondances semblent être un facteur déterminant à l'absence d'essentialité, de même que l'absence conjointe d'un couple ou d'un pool de régulateurs pourrait conduire à des phénotypes plus forts (Rachwalski <i>et al</i> , 2022). Nos travaux précédents ont convergé vers ce constat lors de l'étude des cibles directes du FT SarA, au cours de laquelle nous avons montré que 11 des 37 sARNs réprimés par SarA l'étaient également par un autre FT, CodY (Augagneur <i>et al</i> , 2020; Oriol <i>et al</i>). La redondance fonctionnelle masquerait ainsi l'importance de certains régulateurs. L'objectif de ce projet de thèse est donc de révéler les redondances entre sARN à travers l'identification de régulateurs communs. Ces derniers seront révélés grâce au système simple hybride chez la levure. Puis, nous étudierons les phénotypes liés à l'absence ou à la surexpression conjointe de sARN notamment dans la virulence, l'antibiorésistance et la formation de biofilm. Nous travaillerons avec une série d'environ 12 sARN, qui auront été choisis car des cibles et des fonctions biologiques leur auront déjà été associées.		
<u>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</u> Nous utiliserons le système simple hybride hétérologue chez la levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i> comme outil de criblage pour identifier les FT régulant les sARN choisis. Dans ce cadre, une banque d'expression de 75 FT de <i>S. aureus</i> sera construite. De même, les 12 souches de levures rapportrices c'est-à-dire pour lesquelles les 12 régions promotrices des sARN d'intérêt auront été clonées en amont du gène rapporteur seront construites. Le criblage permettra l'identification de l'ensemble des FT régulant chaque sARN d'intérêt. Ensuite, nous sélectionnerons les duos de régulateurs (sARN ou FT) les plus prometteurs en termes de redondance fonctionnelle afin de construire des doubles mutants dans <i>S. aureus</i> . Ces mutants seront étudiés par rapport à leur phénotype dans la virulence, l'antibiorésistance et la formation de biofilm. Pour l'étude de la virulence <i>in vivo</i> , nous avons opté pour le modèle larvaire <i>Galleria mellonella</i> qui est déjà utilisé au laboratoire et est éthiquement plus responsable (Ménard <i>et al</i> , 2021). Pour autant, ce modèle nécessite le développement et/ou l'adaptation d'outils. C'est pourquoi en parallèle du développement des outils de criblage par simple hybride hétérologue, il s'agira de tester et choisir les outils permettant la visualisation et la quantification (bioluminescence ou fluorescence) des bactéries au cours de l'infection via l'intégration de gènes rapporteurs dans un locus neutre du chromosome bactérien. Ce système construit dans une souche sauvage sera transféré par transduction phagique dans les mutants que nous étudierons. L'identification de duos de régulateurs essentiels à la croissance, à la virulence, à la formation de biofilm ou encore au développement de l'antibiorésistance pourrait, à plus long terme, aboutir à l'identification de cibles antibactériennes.		
<u>Compétences scientifiques et techniques requises par le-la candidat-e (2 lignes) :</u> Le/la candidat(e) devra avoir de bonnes connaissances en biologie moléculaire ainsi qu'en microbiologie. Il/elle devra se sentir capable de réaliser des expériences sur le modèle larvaire.		
<u>3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :</u> 1. Charlotte Oriol, Liviu Cengher, Adhar C. Manna, Tony Mauro, Marie-Laure Pinel-Marie, Brice Felden, Ambrose Cheung, Astrid Rouillon. Expanding the <i>Staphylococcus aureus</i> SarA Regulon to Small RNAs. <i>mSystems</i> . 2021 Sep-Oct; 6(5): e00713-21. 2. Guillaume Ménard, Astrid Rouillon, Gevorg Ghukasyan, Mathieu Emily, Brice Felden, Pierre-Yves Donnio. <i>Galleria mellonella</i> Larvae as an Infection Model to Investigate sRNA-Mediated Pathogenesis in <i>Staphylococcus aureus</i> . <i>Front Cell Infect Microbiol</i> . 2021; 11: 631710. 3. Amiot N., Augagneur Y, Camberlein E., Nicolas I., Lecureur V., Rouillon A. et Felden B. A novel <i>Staphylococcus aureus</i> cis-trans type I toxin-antitoxin module with dual effects on bacteria and host cells. <i>Nucleic Acids Res</i> . 2019 Feb 28;47(4):1759-1773.		
<u>Collaborations nationales et internationales :</u> C. Nielsen-Leroux, INRAe, MICALIS : teams GME and MicrobAdapt, Jouy en Josas, France		